

Nathalia Darminia Aceval Arriola

**POTENCIAL DO PROCESSO DE NANOFILTRAÇÃO NA
CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO SUCO
DE MELANCIA (*Citrullus lanatus*)**

Dissertação submetida ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência dos Alimentos, do Centro
de Ciências Agrárias, da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau
de Mestre em Ciências dos
Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Renata Dias
de Mello Castanho Amboni

**Florianópolis
2013**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Aceval Arriola, Nathalia Darminia
POTENCIAL DO PROCESSO DE NANOFILTRAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO
DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO SUCO DE MELANCIA (*Citrullus
lanatus*) / Nathalia Darminia Aceval Arriola ;
orientadora, Renata Dias de Mello Castanho Amboni -
Florianópolis, SC, 2013.
93 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos.

Inclui referências

1. Ciência dos Alimentos. 2. suco de melancia. 3.
nanofiltração. 4. compostos bioativos. 5. atividade
antioxidante. I. Dias de Mello Castanho Amboni, Renata .
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

Nathalia Darminia Aceval Arriola
POTENCIAL DO PROCESSO DE NANOFILTRAÇÃO NA
CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO SUCO
DE MELANCIA (*Citrullus lanatus*)

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciência dos Alimentos, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Florianópolis, 28 de Fevereiro de 2013.

Prof^a. Dr^a. Roseane Fett
Coordenadora do Programa

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Renata Dias de Mello Castanho Amboni
Orientadora - UFSC

Prof. Dr José Carlos Cunha Petrus
UFSC

Prof^a. Dr^a. Edna Regina Amante
UFSC

Prof^a. Dr^a. Elane Schwinden Prudêncio
UFSC

*Aos meus pais, Gladis e
Federico, ao meu irmão, Emilio e
à minha família, minha base, meu
suporte.*

Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos aos que contribuíram para a realização deste trabalho:

À professora Dra. Renata Dias de Mello Castanho Amboni, minha orientadora, pela oportunidade concedida, dedicação, amizade, disposição e confiança.

À professora Dra. Elane Schwinden Prudêncio, pela valiosa colaboração, pelo incentivo, ensinamentos, amizade e bom humor.

À professora Dra. Edna Regina Amante, pelos ensinamentos e imensa disposição e ao Laboratório Frutas e Hortaliças, onde realizei grande parte das análises.

Ao professor Dr. Luciano Vitali, pelos ensinamentos, paciência, disposição e ajuda com as análises antioxidantes.

Ao Luciano Gonzaga, pela ajuda nos esclarecimentos de dúvidas e disposição.

Ao professor Dr. José Carlos Cunha Petrus, que gentilmente cedeu o laboratório de Processos de Separação por Membranas para a realização da nanofiltração.

Aos membros da banca examinadora, pelo aceite e pelas contribuições ao trabalho.

Às colegas do Laboratório de Leites e Derivados, Stephanie, Carlise, Brunna, Renata, Carolina, Isabella, pelo bom humor, companhia, amizade e ajuda. Em especial a Gielen, minha companheira de análises e desafios, nós conseguimos!

Ao Laboratório de Processos de Separação com Membranas, em especial as colegas Silvia e Kátia pela disposição e ajuda na nanofiltração.

À professora Dra. Ana Carolina Maisonnave Arisi e ao Laboratório de Biotecnologia, pelo empréstimo da centrífuga refrigerada.

Ao professor Dr. Miguel Pedro Guerra e ao Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais, em especial a Leila, pela disposição e ajuda na liofilização das amostras.

À minha família, Gladis, Federico, Emilio e Amaru, pelo apoio indispensável em todos os momentos. Vocês são o motivo da minha determinação em querer fazer sempre o “meu melhor”.

Ao Marcel, pelo amor, apoio e por sempre estar do meu lado.

Às minhas amigas Gabriela, Laura, Juliana e Carolina, pelo companheirismo e por estarem sempre presentes em todas as etapas da minha vida.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização do mestrado, e aos professores do programa pelo conhecimento adquirido nesses dois anos.

À FAPESC pelo apoio financeiro para a concretização desta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), no auxílio bolsa.

A todos os professores, funcionários e colegas do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Muito Obrigada!!

ARRIOLA, Nathalia Darminia Aceval. **Potencial do processo de nanofiltração na concentração de compostos bioativos do suco de melancia (*Citrullus lanatus*)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

Resumo

A melancia de polpa vermelha (*Citrullus lanatus*) é considerada um fruto de alto valor nutricional, pois constitui uma fonte natural de compostos bioativos, como o licopeno. O licopeno vem se destacando devido à sua ação benéfica à saúde, sendo considerado um dos mais potentes antioxidantes dentre os carotenóides. O processo de separação por membranas vem sendo muito utilizado para concentração de compostos bioativos, sendo capaz de preservar a qualidade do produto, considerando que não utiliza altas temperaturas. O principal objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento do suco de melancia durante o processo de concentração por nanofiltração (NF), avaliando a separação e concentração de compostos bioativos, além de investigar a sua capacidade antioxidante. O teor de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais presentes nos concentrados aumentou com o incremento do fator de redução volumétrico (FRV), sendo que estes valores foram superiores aos valores obtidos no suco de melancia. O melhor desempenho na concentração do suco de melancia foi obtido no FRV 3, alcançando os teores mais elevados de compostos bioativos. A eficiência do processo foi avaliada através do cálculo da percentagem de retenção (R), sendo que o licopeno obteve o maior R , 98,37 %, seguido dos flavonóides e compostos fenólicos com R de 95,54 % e 65,16 %, respectivamente. A atividade antioxidante de extratos lipofílicos e hidrofílicos (LAA e HAA, respectivamente) foi determinada através de dois métodos, isto é, a capacidade de antioxidantes em sequestrar o radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH[•]) e o potencial antioxidante redutor férrico (FRAP). Os extratos hidrofílicos e lipofílicos de suco de melancia apresentaram variações significativas nas suas capacidades de interagir com o DPPH e FRAP, sendo que os valores referentes ao HAA foram significativamente superiores ($p < 0,05$) aos valores referentes ao LAA, em ambos os métodos. Além disso, a atividade antioxidante dos concentrados aumentou à medida que o

valor de FRV foi aumentado. Por fim, observou-se uma correlação altamente significativa entre o conteúdo de flavonóides, compostos fenólicos, ácido ascórbico e licopeno, e os seus potenciais antioxidantes em ambas as frações HAA e LAA. Considerando os resultados obtidos, o processo de NF mostrou ser eficiente na concentração de compostos bioativos presentes no suco de melancia.

Palavras-chave: suco de melancia, nanofiltração, licopeno, flavonóides, compostos fenólicos, atividade antioxidante.

ARRIOLA, Nathalia Darminia Aceval. **Potential of nanofiltration process in the concentration of bioactive compounds from watermelon juice** (*Citrullus lanatus*). 2013. Dissertation (Master's in Food Science) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

ABSTRACT

Red-fleshed watermelon (*Citrullus lanatus*) is considered a fruit of high nutritional value, being a natural source of bioactive compounds, such as lycopene. Lycopene has aroused considerable attention due to its potential health benefits and is considered one of the most effective antioxidants among carotenoids. Concentration processes are applied aiming to increase the content of bioactive compounds present in foods, however, it is essential that these processes preserve the biological activity of these compounds. Membrane processes are extensively used for this purpose, due to the capability of preserving the product's quality, since they operate in mild conditions. Thus, the aim of this study was to evaluate the behavior of watermelon juice during the concentration process through nanofiltration (NF), evaluating the separation and concentration of bioactive compounds, and investigating their antioxidant capacities. The content of lycopene, total flavonoids and total phenolic compounds (TPC) present in the concentrates increased with the increase of the volume reduction factor (VRF), and these values were also higher than the values obtained in watermelon juice (unfiltered). VRF of 3 showed the best performance of concentration of watermelon juice reaching the highest values of bioactive compounds. The process's efficiency was assessed through the retention index (*R*). Lycopene showed the highest *R*, of 98.37 %, followed by flavonoids and TPC with an *R* of 95.54 % and 65.16 %, respectively. The antioxidant activity of lipophilic and hydrophilic extracts (LAA and HAA, respectively) were assessed through two assays, namely the scavenging ability of antioxidants towards the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) assay and the ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. The hydrophilic and lipophilic extracts of watermelon juice showed significant variations in their ability to interact with the DPPH and FRAP assays, and the values obtained on the HAA were significantly higher ($p < 0.05$) than the values of the LAA in both assays. Furthermore, the antioxidant activity of the concentrates increased as the FRV value was increased. Finally, it

was observed a highly significant correlation between the flavonoids, phenolic compounds, ascorbic acid and lycopene content, and their antioxidant potential in both HAA and LAA fractions. Considering these results, the NF process was found to be efficient for the concentration of bioactive compounds present in watermelon juice.

Keywords: Watermelon juice; nanofiltration; lycopene; flavonoids; phenolic compounds; antioxidant activity.

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figura 1.1 Estrutura de alguns carotenóides, 28
incluindo licopeno e β -caroteno.

Figura 1.2 Estrutura básica de um composto 32
fenólico.

Figura 1.3 Comparação esquemática entre filtração 43
convencional (filtração frontal) e a filtração
tangencial.

Figura 1.4 Características dos processos de 46
separação por membrana.

Capítulo 2

Figura 2.1 Fluxo do permeado (J) durante o tempo 78
(min) de nanofiltração do suco de melancia.

Lista de Quadros

Capítulo 1

Quadro 1.1 Dados da produção de melancia referentes ao ano de 2010. 24

Quadro 1.2 Principais produtores mundiais de melancia em 2010. 25

Quadro 1.3 Compostos fenólicos flavonóides e não-flavonóides. 34

Lista de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1.1 Composição química média da melancia.	27
---	----

Tabela 1.2 Concentração de licopeno em frutas.	30
---	----

Capítulo 2

Tabela 2.1 Composição do suco de melancia, concentrados e permeados obtidos por nanofiltração.	80
---	----

Tabela 2.2 Atividade antioxidante hidrofílica e lipofílica do suco de melancia, concentrados e permeados obtidos pelo processo de nanofiltração de suco de melancia	84
--	----

Tabela 2.3 Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as atividades antioxidantes dos ensaios DPPH e FRAP e o teor de fenólicos totais, flavonóides, ácido ascórbico e licopeno.	85
---	----

Lista de Abreviaturas

a	Dalton (g/mol)
PPH	2,2- difenil-1-picril-hidrazila
AP	Potencial antioxidante redutor férrico (<i>Ferric reducing antioxidant power</i>)
AG	Equivalentes de Ácido Gálico
V/ VRF	Fator de redução volumétrico (<i>Volume reduction factor</i>)
AA	Atividade antioxidante de extratos hidrofílicos (<i>Hydrophilic antioxidant activity</i>)
	Fluxo do permeado (<i>Permeate flux</i>)
AA	Atividade antioxidante de extratos lipofílicos (<i>Lipophilic antioxidant activity</i>)
F	Nanofiltração (<i>Nanofiltration</i>)
EM	Processos de separação por membranas
	Coeficiente de retenção (<i>Retention Index</i>)
E	Equivalente de Rutina.
V	Ultravioleta
AH/HAT	Reações de transferência de átomos de hidrogênio (<i>Hydrogen atom transfer mechanism</i>)
E/ET	Reações de transferência de elétron (<i>Electron-transfer mechanism</i>)
PC	<i>Total phenolic content</i>
s	Visível

Sumário

Introdução	18
Referências	20
Capítulo 1 – Revisão Bibliográfica	22
1.1 Melancia	24
1.2 Condições de cultivo e características da cultura	25
1.3 Composição química	26
1.4 Carotenóides	27
1.4.1 Licopeno	29
1.5 Compostos fenólicos	32
1.6 Atividade Antioxidante	35
1.6.1 Métodos de determinação da atividade antioxidante	39
1.7 Processos de separação por membranas	40
1.7.1 Nanofiltração	47
Referências	49
 Capítulo 2 – POTENCIAL DO PROCESSO DE NANOFILTRAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO SUCO DE MELANCIA (<i>CITRULLUS LANATUS</i>).	 66
Resumo	68
Abstract	69
1 Introdução	70
2 Material e Métodos	72
2.1.1 Matéria prima e reagentes	72
2.2 Preparo do suco de melancia	72
2.3 Nanofiltração (NF)	72

2.4 Composição do suco de melancia, concentrados e permeados	73
2.4.1 Procedimento de extração	74
2.4.2 Determinação de licopeno	74
2.4.3 Determinação de flavonóides totais	75
2.4.4 Determinação de compostos fenólicos totais	75
2.5 Determinação da atividade antioxidante	76
2.5.1 DPPH [*] (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)	76
2.5.2 Potencial antioxidante redutor férrico (FRAP)	76
2.6 Análise estatística	77
3 Resultados e Discussão	78
3.1 Nanofiltração	78
3.2 Composição do suco de melancia, concentrados e permeados	79
3.2.1 Teor de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais.	81
3.3 Atividade antioxidante hidrofílica e lipofílica (DPPH e FRAP)	82
4 Conclusão	87
Referências	88

Introdução

O consumo de frutas e vegetais tem sido fortemente relacionado com a diminuição do risco de doenças degenerativas. Entre os possíveis fitoquímicos presentes em frutos associados a essa proteção está o licopeno, um carotenóide que vem ganhando destaque desde o final da década de 80 devido ao seu elevado potencial como antioxidante natural (DI MASCIO; KAISER; SIES, 1989; RAO; AGARWAL, 2000). A fonte de licopeno mais consumida e mais investigada é o tomate (GIOVANNUCCI, 1999; AGARWAL; RAO, 2000), porém no Brasil pode ser encontrada uma série de outras frutas com considerável teor de licopeno, como a melancia, goiaba vermelha, pitanga, entre outras (RODRÍGUEZ-AMAYA, 2001).

A melancia de polpa vermelha (*Citrullus lanatus*) constitui uma fonte natural de licopeno e é um fruto, que nos últimos anos, vem se destacando devido a sua alta produção tanto nacional quanto mundial, sendo que o Brasil apresentou um importante aumento de produção correspondente a 17,5 % no ano de 2009 (IBGE, 2010). O Brasil apresenta a quinta maior área plantada e o quarto lugar em produção mundial de melancia e destaca-se desta forma, por ser o único representante da América do Sul na lista dos grandes produtores deste fruto (FAO, 2011).

A polpa da melancia é amplamente utilizada para a elaboração de sucos, néctares, geléias e saladas, devido as suas agradáveis características de cor, sabor, e suculência, assim como por sua potencialidade nutricional, uma vez que a polpa está constituída por importantes teores de minerais e, principalmente, de licopeno. Alguns estudos relatam que o conteúdo de licopeno da melancia é maior em relação a muitas frutas e verduras, incluindo o tomate (HOLDEN et al., 1999; EDWARDS et al., 2003; PERKINS-VEAZIE; COLLINS, 2004).

O desenvolvimento e aplicação de processos de concentração que visem aumentar o teor de substâncias bioativas é fundamental para as indústrias de alimentos. Os métodos tradicionais de concentração incluem processos que geralmente fazem uso de calor, o que resulta na perda de qualidade sensorial do produto e redução da atividade biológica pela degradação de compostos nutricionais (SILVA, 2003; AIDER; HALLEUX, 2009a; GEA, 2011). O processo de concentração por membranas tem sido amplamente utilizado com a finalidade de manter a alta qualidade de compostos termosensíveis, considerando que utiliza baixas temperaturas e mínimo consumo energético.

A nanofiltração é um processo de separação por membranas que apresenta propriedades entre a ultrafiltração e a osmose reversa, devido a sua capacidade de separar e fracionar substâncias com baixa massa molar, na faixa de 100 a 1000 g/mol. Devido a esta capacidade de separação, a concentração de compostos bioativos presentes em alimentos é favorecida, tornando-se possível o aumento do teor destas substâncias. Além disso, a nanofiltração apresenta uma série de vantagens, tais como baixo consumo de energia; redução do número de etapas de processamento; simplicidade de operação; alta seletividade e eficiência na separação; obtenção de produtos com melhor qualidade, podendo preservar as características funcionais, nutricionais e sensoriais do produto obtido (CHERYAN, 1998; ORDÓÑEZ, 2005; HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006).

Como não foram encontrados relatos da utilização da nanofiltração para concentrar licopeno a partir de suco de melancia, torna-se interessante a avaliação da viabilidade desta tecnologia através deste estudo.

Esta dissertação será apresentada na forma de artigos, divididos nos seguintes capítulos:

- (a) Capítulo 1: revisão bibliográfica;
- (b) Capítulo 2: potencial do processo de nanofiltração na concentração de compostos bioativos do suco de melancia (*Citrullus lanatus*).

Referências

AGARWAL, S.; RAO, A.V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **Canadian Medical Association Journal**, v. 163, n. 6, p. 739-44, 2000.

AIDER, M.; HALLEUX, D. Cryoconcentration technology in the bio-food industry: Principles and applications. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 679-685, 2009a.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and Microfiltration Handbook**. CRC Press, New York, 1998.

DI MASCIO, P.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 274, p. 532-538, 1989.

EDWARDS, A.J.; VINYARD, B.T.; WILEY, E.R.; BROWN, E.D.; COLLINS, J.K.; PERKINS-VEAZIE, P.; BAKER, R.A.; CLEVIDENCE, B.A. Consumption of watermelon juice increases plasma concentration of lycopene and β -carotene in humans. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 4, p. 1043–1050, 2003.

FAO Statistical Databases. Disponível em <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 05 dez 2012.

GEA. **Crystallization and Separation**. Disponível em: <<http://www.gea-messo-pt.com/>> Acesso em: 04 jun 2012.

GIOVANNUCCI, E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. **Journal of National Cancer Institute**, v. 91, p. 317-331, 1999.

HABERT, A.C.; BORGES, C.P.; NÓBREGA, R. **Processos de separação com membranas**. Rio de Janeiro: E-papers, p.180, 2006.

HOLDEN, J.M.; ELDRIGUE, A.L.; BEECHER, G.R.; BUZZARD, I.M.; BHAGWAT, S.; DAVIS, C.S.; DOUGHLASS, L.W.; GEBHARDT, S.; HAYTOWITZ, D.; SCHAKEL, S. Carotenoids

content of U.S. foods: an update of the database. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 12, p. 169-196, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-
IBGE. Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1736&id_pagina=1>. Acesso em: 05 jun. 2012.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos – Componentes dos Alimentos e Processos**. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K. Flesh quality and lycopene stability in fresh cut watermelon. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31, p. 159–166, 2004.

RAO, A.V.; AGARWAL, S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 5, p. 563-9, 2000.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in foods. **EUA: OMNI Research**, p. 64, 2001.

SILVA F., J.M. **Aperfeiçoamento tecnológico do processo de crioc concentração: modelagem e simulação**. Tese de doutorado - Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas. p. 14 – 21, 2003.

Capítulo 1

Revisão Bibliográfica

1 Revisão Bibliográfica

1.1 Melancia

A melancia pertence à família das *Curcubitáceas*, a mesma da abóbora (*Cucurbita moschata*) e do melão (*Cucumis melo*) (ALMEIDA, 2003). Ela é cultivada em quase todos os estados brasileiros, e os principais produtores são Rio Grande do Sul (421.647 t), Bahia (292.432 t), Goiás (272.650 t) e São Paulo (242.586 t), sendo as regiões Nordeste e Sul, responsáveis por 30,9 % e 25,8 %, respectivamente, da produção nacional (IBGE, 2011).

Mundialmente, a melancia está entre as dez frutas com maior índice de exportação, constituindo atualmente uma das principais frutas em volume de produção, com um mercado estimado em mais de 1,7 milhões de toneladas por ano. De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), a produção mundial de melancia em 2010 foi de cerca de 99,1 milhões de toneladas, tendo como os maiores produtores a China, Turquia, Irã, Estados Unidos, e o Egito, que representam mais de 82 % da produção mundial. As exportações brasileiras de melancia ainda são reduzidas quando comparadas com a produção, embora tenha se registrado uma significativa tendência de crescimento, passando de 6,1 mil toneladas em 1995 para 16,1 mil toneladas em 2004 (FAO, 2011).

O Brasil destaca-se por ser o único representante da América do Sul na lista dos grandes produtores deste fruto, sendo a quinta maior área plantada e o quarto lugar em produção mundial de melancia (Quadros 1.1 e 1.2) (FAO, 2011).

Quadro 1.1- Dados da produção de melancia referentes ao ano de 2011.

	Área Plantada (hectares)	Produção (toneladas)
Brasil	94.946	2.052.930
América do Sul	162.516	2.639.510
Mundo	3.601.910	2.839.364

Fonte: FAO (2011).

Quadro 1.2- Principais produtores mundiais de melancia em 2011.

País	Produção (toneladas)
China	66.225.925
Turquia	3.683.100
República Islâmica do Irã	3.466.880
Brasil	2.052.930
Mundo	99.161.274

Fonte: FAO (2011).

1.2 Condições de cultivo e características da cultura

A melancia é uma planta anual de crescimento rasteiro, com folhas médias e flores pequenas, de coloração amarela ou branca. Os frutos são constituídos por uma baga, de paredes externas duras e internas carnosas. A fruta pode ser arredondada ou alongada, com tamanho variável entre 25 e 75 cm. Quando madura, a coloração externa varia de verde-cana a verde-escuro, enquanto que na polpa a coloração é predominantemente vermelha (CASTELLANE; CORTEZ, 1995).

A cultura da melancia exige climas quentes ou temperado-quentes podendo ser encontrada em todas as regiões tropicais do mundo. Vários fatores devem ser considerados na cultura da melancia, dos quais a temperatura é definida como o mais importante, pois influencia diretamente nos processos de germinação, desenvolvimento vegetativo, abertura das flores e sabor dos frutos (CASTELLANE; CORTEZ, 1995). As temperaturas ideais de cultivo variam entre 25 a 30 °C, necessitando de boa disponibilidade de água durante o período de crescimento da planta e de solos profundos com boa drenagem interna, e não sujeitos à inundação (ALMEIDA, 2003; MORI, 1996). Segundo Tessarioli e Groppo (1992), um clima mais quente e seco favorece a formação de frutos com excelentes qualidades sensoriais. Ao contrário, em condições de umidade relativa alta e baixa insolação, os frutos formados são de má qualidade.

Os cultivares mais plantados no Brasil são de origem americana ou japonesa, destacando-se as variedades Crimson Sweet, Jubille e Pérola. Dentre essas variedades, a Crimson Sweet, de origem americana, apresenta alta produtividade e teor de licopeno em torno de 4,1 mg/100g. Esta variedade apresenta casca verde-escura rajada, firme e resistente ao transporte, com um formato arredondado, com cerca de 30 a 40 cm de comprimento e 25 a 30 cm de diâmetro. Internamente apresenta uma polpa de coloração vermelha intensa com sementes miúdas, de excelente sabor e textura fina. Seu peso varia de 11 a 14 kg, podendo atingir de 20 a 22 kg (CASTELLANE; CORTEZ, 1995; MORI, 1996).

A polpa da melancia compreende cerca de 60 % do fruto inteiro, enquanto os outros 40 % correspondem à casca e sementes (MORI, 1996). A pigmentação vermelha da polpa é conferida pelo pigmento natural pertencente ao grupo dos carotenóides denominado licopeno, e no caso dos cultivares de polpa amarela que são variedades comumente encontradas no Japão, Estados Unidos, Europa e Ásia, a cor é conferida por β - caroteno e xantofilas (ALMEIDA, 2003).

1.3 Composição química da melancia

A melancia é constituída por cerca de 90 % de água e apresenta baixo valor calórico (26 kcal/100g de fruto *in natura*). Substâncias como açúcares, dos quais os principais são glicose, frutose, sacarose e maltose; vitaminas do complexo B e vitamina C; além de licopeno e sais minerais como cálcio, fósforo e ferro, também fazem parte de sua composição (MIRANDA, 2005). A Tabela 1.1 apresenta a composição química média da melancia.

O licopeno é o componente químico da polpa da melancia que vem sendo foco de pesquisas. É um carotenóide que tem como principal mecanismo de ação a capacidade de atuar como antioxidante, combatendo os radicais livres que podem alterar o DNA das células e desencadear o processo cancerígeno (DI MASCIO; KAISER; SIES, 1989; GIOVANNUCCI, 1999; ARAB; STECK, 2000; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Tabela 1.1 - Composição química média da melancia*

Constituintes	Teor	Vitaminas	Teor	Minerais	Teor
Água (g)	93	Vitamina A (UI)	590	Cálcio (mg)	7
Energia (kcal)	26	Tiamina (mg)	0,03	Fósforo (mg)	10
Proteína (g)	0,5	Riboflavina (mg)	0,03	Sódio (mg)	1
Gordura (g)	0,2	Niacina (mg)	0,2	Potássio (mg)	100
Carboidratos (g)	6,4	Ácido acórbico (mg)	7	Magnésio (mg)	10,2
Fibra (g)	0,3	Vitamina B6 (mg)	0,07	Ferro (mg)	0,5
		Ácido pantoténico (mg)	0,03	Zinco (mg)	0,09
		Ácido fólico (µg)	8	Cobre (mg)	0,02
		Biotina (µg)	3,6	Licopeno (mg)	0,036

Fonte: Almeida (2003).

*valores expressos por 100 g de parte comestível.

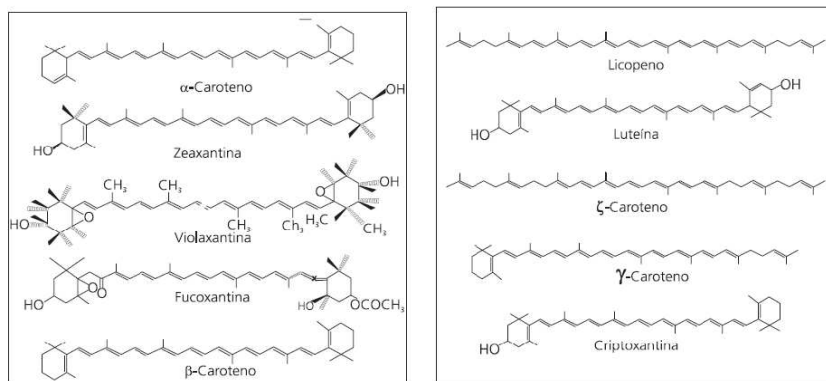
1.4 Carotenóides

Os carotenóides são compostos lipossolúveis, que formam um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais difundidos na natureza, e são responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha de grande número de frutas, folhas e algumas flores. São sintetizados pelas plantas e por micro-organismos, sendo estas suas principais fontes (SANDERS, 1994; OLIVER; PALOU; PONS, 1998).

Os carotenóides possuem propriedades especiais, as quais estão intimamente ligadas à sua conformação estrutural. Geralmente, são compostos de 40 átomos de carbono, apresentando uma série de duplas ligações conjugadas, que constituem o cromóforo responsável pela absorção de luz na região do visível (Figura 1.1). Podem ser acíclicos ou ciclizados em uma ou ambas as extremidades. Sua estrutura é tetraterpenóide (C40), constituída por oito unidades isoprenóides de cinco carbonos (C5) ligadas de tal forma, que a molécula é linear e simétrica, com simetria invertida no centro (GROSS, 1991; FERREIRA, 2001; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002a). As duplas ligações podem

ocorrer na forma *cis* ou *trans*, sendo que estes compostos existem na natureza principalmente na configuração *trans*, correspondente à forma mais estável (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002a).

Figura 1.1- Estrutura de alguns carotenóides, incluindo licopeno e β -caroteno.



Fonte: Rodríguez-Amaya (2001).

De acordo com o tipo e teor de carotenóides, surgem as várias cores características de muitos alimentos. Quimicamente, distinguem-se dois grupos de carotenóides: os carotenos, constituídos por hidrocarbonetos, e as xantofilas ou oxicarotenóides, que contêm pelo menos um derivado oxigenado, como, por exemplo, os grupamentos hidroxí, ceto, epóxi, metoxi e ácido carboxílico (GROSS, 1991; STAHL; SIES, 1999; FERREIRA, 2001; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002a; PORCU, 2004).

A cadeia poliênica responsável pelas propriedades especiais e desejáveis dos carotenóides é também causa de sua instabilidade, isto é, susceptibilidade à isomerização e oxidação. Calor, luz e ácidos promovem a isomerização de carotenóides *trans* para a forma *cis*, com ligeira perda de cor e atividade biológica. Os *trans* carotenos podem converter-se em *cis* carotenos pelo processamento de alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN, 1992). A oxidação, principal causa da degradação, depende da disponibilidade de oxigênio, do tipo de carotenóide presente e do seu estado físico e é estimulada por luz, calor, metais, enzimas e peróxidos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002a).

Os carotenóides apresentam boa estabilidade na faixa de pH dos alimentos que os contêm (pH 3,0 a 7,0) (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Devido a sua lipossolubilidade, são solúveis em solventes orgânicos como éter de petróleo, metanol, acetona, e desta forma, são insolúveis na água, exceto quando formam complexos com proteínas (carotenoproteínas). Nesse contexto, os carotenóides são encontrados na natureza complexados com proteínas, como soluções oleosas ou dispersões coloidais e ocorrem tanto em meio lipídico quanto aquoso (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002a).

Dentre as funções biológicas atribuídas aos carotenóides, destacam-se a redução do risco de certos tipos de câncer; doenças cardiovasculares; degeneração macular e catarata (HANDELMAN, 2001; GERTH et al., 2004; KOH et al., 2004; TAPIERO et al., 2004; KRINSKY; JOHNSON, 2005; NISHINO et al., 2009). Os carotenóides também apresentam atividade imunoestimuladora, inibindo a progressão de doenças (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999b). Pela grande variedade de alimentos carotenogênicos presentes no Brasil, considera-se importante o aproveitamento dos mesmos para o benefício da saúde da população, bem como para impulsionar a comercialização destes produtos no mercado tanto interno como externo.

1.4.1 Licopeno

De acordo com Bramley (2000), 85 % do licopeno consumido pelos humanos é obtido do tomate ou de seus derivados e o restante é proveniente da melancia, *grapefruit*, goiaba e mamão. No entanto, pelo alto consumo de tomate e seus produtos, estes continuam sendo as principais fontes deste carotenóide na dieta brasileira.

O licopeno é um carotenóide acíclico, lipossolúvel que se caracteriza por ser solúvel em solventes orgânicos (EFSA, 2008). Devido à falta de um anel β -ionona, não apresenta a atividade pró-vitamina A como outras substâncias carotenóides. Estruturalmente é composto somente por átomos de carbono e hidrogênio ($C_{40}H_{56}$), contendo onze ligações duplas conjugadas e duas ligações não conjugadas como ilustrado na Figura 1.1. É o carotenóide mais simples e formado basicamente por oito unidades de isopreno e cuja massa molar é de 536,85 Da (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999a; SHI; LE MAGUER, 2000). Esse sistema de duplas ligações conjugadas constitui o cromóforo responsável pelo seu poder corante, sendo responsável pela coloração vermelho-alaranjada de vegetais nos quais está presente em concentrações variadas (Tabela 1.2), sendo o tomate, goiaba vermelha,

melancia, mamão e pitanga as principais fontes de licopeno (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999b). Contudo, o licopeno é considerado o carotenóide com maior capacidade antioxidante, devido à presença das duas ligações duplas não conjugadas, o que lhe oferece maior reatividade atuando como sequestrante do oxigênio singlete (DI MASCI; KAISER; SIES, 1989; KRINSKY, 2001).

Tabela 1.2- Concentração de licopeno em frutas.

Fonte	Cultivar	Origem da amostra	Licopeno (mg/100g)	Referência
Goiaba (<i>Psidium guajava</i>)	IAC-A	São Paulo	5,3 ± 6	Padula e Rodríguez-Amaya (1986)
	Paluma	São Paulo	8,5 ± 5	Porcu (2004)
	Ogawa	São Paulo	5,9 ± 9	Kimura e Rodríguez-Amaya (2002)
Mamão (<i>Carica papaya</i>)	Formosa	São Paulo	1,9 ± 4	Rodríguez-Amaya (1999a)
	Tailândia	Bahia	4,0 ± 6	Kimura e Rodríguez-Amaya (2002)
Melancia (<i>Citrullus lanatus</i>)	Crimsom Sweet	São Paulo	3,6 ± 5	Niizu (2003)
	Crimsom Sweet	Goiás	3,5 ± 2	Niizu (2003)
Pitanga (<i>Eugenia uniflora</i>)		Pernambuco	7,3 ± 1	Cavalcante (1991)
		Paraná	1,4 ± 5	Porcu (2004)
		São Paulo	7,1 ± 9	Porcu (2004)
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	Santa Cruz	São Paulo	3,1 ± 20	Tavares e Rodríguez-Amaya (1994)
	Carmen	São Paulo	3,5 ± 10	Niizu (2003)

Fonte: Clareto (2007).

Ainda, em função dessas onze duplas ligações, o licopeno pode assumir formas isoméricas e, devido a impedimentos estéricos, apenas alguns grupos etilênicos podem participar da isomerização *cis-trans*, resultando em 72 isômeros *cis* existentes na natureza (NGUYEN; SCHWARTZ, 1999).

O licopeno consumido na forma natural (*trans*-licopeno) é pouco absorvido. Estudos relatam que o aproveitamento do licopeno

pelo organismo depende de vários fatores, como a presença da matriz alimentar; a forma isomérica e a quantidade do licopeno presente no alimento; a presença de outros nutrientes na refeição (como gordura, fibras e outros carotenóides); o processamento do alimento; além da individualidade biológica e estado nutricional do indivíduo (BRAMLEY, 2000; MORITZ; TRAMONTE, 2006).

A presença de lipídeos na dieta e especialmente a isomerização do licopeno estão diretamente relacionadas com o aumento de sua biodisponibilidade. O efeito do tratamento térmico é considerado de grande importância, visto que o calor facilita o rompimento da membrana do licopeno, o que proporciona a conversão da forma *trans* para *cis*, aumentando sua solubilidade e consequentemente, a sua biodisponibilidade (HASLER, 2002; WEISBURGER, 2002). Da mesma forma, a gordura dietética também influencia a absorção do licopeno. Para que o mesmo seja absorvido é necessário que seja incorporado às micelas, sendo sua formação dependente da presença de gordura no intestino, assim, a solubilidade do licopeno é favorecida em razão de suas características lipofílicas (GIOVANNUCCI et al., 2002; MORITZ; TRAMONTE, 2006).

Em um estudo realizado por Clevidence e Edwards (2002) foi verificada a biodisponibilidade do licopeno presente em suco de melancia congelado, não pasteurizado e sem tratamento térmico em um grupo de voluntários saudáveis, não fumantes, constituído de doze homens e onze mulheres. Suco de tomate tratado termicamente foi utilizado como referência. Os pesquisadores evidenciaram que a concentração plasmática de licopeno foi semelhante em ambos os tratamentos (suco de melancia e suco de tomate), quando ingeridos na mesma concentração. Isto não era esperado, pois o processamento térmico aplicado no suco de tomate constitui um fator importante para o aumento da biodisponibilidade do licopeno. Desta forma, foi demonstrado que o licopeno presente na melancia apresenta boa biodisponibilidade sem necessidade de processamento térmico.

Diversos estudos epidemiológicos realizados nos últimos anos têm evidenciado que o aumento no consumo de alimentos considerados fontes de licopeno está associado a uma redução do risco de desenvolvimento de câncer e doenças cardiovasculares (GIOVANNUCCI et al., 1995; RAO; AGARWAL, 1998; ARAB; STECK, 2000; BOILEAU; CLINTON; ERDMAN, 2000; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; GIOVANNUCCI et al., 2002; KRIS-ETHERTON et al., 2002; WILLIS; WIAN, 2003; TANG et al., 2005; ZHANG et al., 2007a; MIKHAK et al., 2008). Entretanto, existem

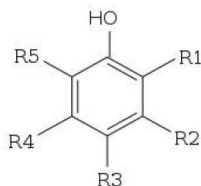
divergências sobre a quantidade de licopeno que deve ser ingerida para que o efeito de redução de incidência de doenças degenerativas seja alcançado. Rao e Agarwal (2000) consideraram que a quantidade ideal de licopeno a ser ingerida deve ser de 35 mg ao dia, enquanto Rao e Shen (2002) consideraram que o consumo diário deveria estar entre 5 e 10 mg. Giovannucci et al. (2002) ressaltam que para a adequação da quantidade ingerida de licopeno, uma recomendação segura seria o estímulo para o aumento de consumo de frutas, verduras e legumes. Além disso, estes últimos autores ressaltam que estudos devem ser desenvolvidos com relação à eficácia e a segurança de pílulas contendo somente licopeno. Segundo Krinsky (2001), outra forma de adquirir maiores quantidades de carotenóides através da dieta é a suplementação de concentrados em alimentos.

1.5 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários presentes nas plantas e são amplamente distribuídos no reino vegetal. São encontrados em diversas partes das plantas (comestíveis e não comestíveis), como nas sementes, frutos, folhas, casca do caule e também na raiz. Englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização e podem estar presentes na forma livre, ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas. Atualmente são conhecidas mais de 8.000 estruturas, cujas origens orgânicas são ligadas ao caminho metabólico do ácido shiquímico e ao metabolismo dos fenil propanóides (DREOSTI, 2000; SALDANHA, 2005).

A estrutura dos compostos fenólicos apresenta uma grande diversidade, sendo que em sua estrutura básica, possuem pelo menos um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (Figura 1.2) (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2007).

Figura 1.2- Estrutura básica de um composto fenólico.



Fonte: Carvalho, Gosman e Schenkel (2007).

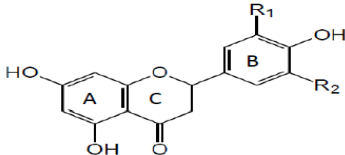
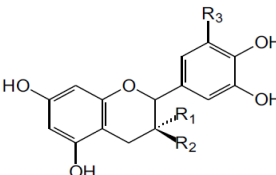
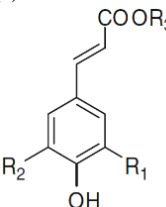
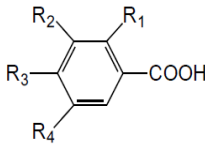
A função dos compostos fenólicos em plantas não é totalmente conhecida, mas sabe-se que eles estão envolvidos na síntese proteica, na modulação da atividade enzimática, na fotossíntese, assim como na proteção contra insetos e raios ultravioleta (UV) e, quando presentes em partes comestíveis, são responsáveis pelas cores, características sensoriais e propriedades antioxidantes (DREOSTI, 2000; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Em geral, os compostos fenólicos costumam ser divididos em dois grandes grupos: os ácidos fenólicos ou não-flavonóides e os flavonóides, ambos encontrados na melancia (Quadro 1.3).

Os flavonóides, junto com os isoprenóides e alcalóides, compreendem as três maiores classes de produtos secundários produzidos pelas plantas superiores. Sua estrutura básica consiste em um núcleo fundamental, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A (Quadro 1.3) (YANEZ et al., 2007).

Os flavonóides diferem entre si de acordo com os grupamentos ligantes dos anéis e a presença ou não, de ligações duplas. Podem ser encontrados na forma aglicosilada, como, por exemplo, a quercetina ou naringenina, porém, é mais frequente encontrá-los no reino vegetal na forma glicosilada, unidas a moléculas de açúcares como a ramnose, rutinose ou ainda é possível misturas de glicosídeos, como a ramnose-glucosídeos, formando, respectivamente, os derivados flavonóides glicosilados (SPANOS; WROLSTAD, 1992). Desta forma, os flavonóides podem ser divididos em diversas classes, entre elas, flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas e antocianinas (ARRABI, et al., 2004; YANEZ, et al., 2007).

Quadro 1.3 - Compostos fenólicos flavonóides e não-flavonóides

Flavonóides						
Flavonóis (a)						
		$R_1 = H \quad R_2 = H$ Campferol $R_1 = OH \quad R_2 = H$ Quercetina $R_1 = OH \quad R_2 = OH$ Miricetina				
Flavanóis (b)						
		$R_1 = OH \quad R_2 = H \quad R_3 = H$ (+)-catequina $R_1 = H \quad R_2 = OH \quad R_3 = H$ (-)-epicatequina				
Não-flavonóides						
Ácidos hidroxicinâmicos (c)		$R_1 \quad R_2 \quad R_3$				
		Cafeico	OH	H	H	
		Caftárico	OH	H	ác. tartárico	
		<i>p</i> -Coumárico	H	H	H	
		Ferúlico	OCH3	H	H	
Ácidos hidroxibenzóicos (d)		$R_1 \quad R_2 \quad R_3 \quad R_4$				
		Gálico	H	OH	OH	OH
		Protocateico	H	OH	OH	H
		Siríngico	H	OCH3	OH	OCH3
		Vanílico	H	OCH3	OH	H

Fonte: Ribéreau-Gayon et al. (2006).

Dentre os ácidos fenólicos encontrados na melancia, destacam-se principalmente os ácidos hidroxibenzóico e hidroxicinâmico e seus respectivos derivados. Além disso, a melancia é considerada uma fonte importante de flavonóides e derivados, como a rutina e a quercetina (ABUH-REIDAH et al., 2013). No entanto, a maioria dos estudos envolvendo a melancia têm sido centrado na determinação do teor de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante (OMS-OLIU et al., 2009; RAWSON et al., 2011; TARAZONA-DIAZ et al., 2011; TLILI et al., 2011a; TLILI et al., 2011b), sendo que os dados disponíveis envolvendo a caracterização dos compostos fenólicos ainda são limitados.

1.6 Atividade Antioxidante

Os antioxidantes podem ser definidos como qualquer substância, que se presente em baixas concentrações quando comparada a um substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz (HALLIWELL, 1995; SIES; STAHL, 1995; AUST et al., 2001; HANDELMAN, 2001).

Substâncias antioxidantes podem ter origem sintética ou natural, podendo as mesmas serem adicionadas a produtos visando prevenir ou retardar a deterioração causada pela ação de radicais livres, como o oxigênio singlete (HALLIWELL, 1995). O estresse oxidativo é um termo utilizado para caracterizar o desequilíbrio entre as concentrações de radicais livres e os mecanismos de defesa antioxidantes, sendo que a sua ocorrência resulta em dano oxidativo a lipídeos, proteínas e DNA (SIES, 1986; FANG; YANG; WU, 2002). Assim, os antioxidantes atuam como protetores da oxidação de biomoléculas por radicais livres e impedem a propagação da reação em cadeia provocada pelos mesmos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1998; FANG; YANG; WU, 2002).

A atividade antioxidante exercida por essas substâncias é determinada pelas suas características estruturais e as mesmas devem apresentar pelo menos uma dessas três propriedades: supressão da formação de radicais livres (seja por quelação de metais ou por inibição de enzimas geradoras de radicais livres); eliminação ou inativação de radicais livres com formação de um produto estável; ou participação em processos de reparo de danos oxidativos (BOURNE; RICE-EVANS, 1999; RIBEIRO, 2005).

A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo humano, e assim, os radicais livres podem ser gerados naturalmente, podendo ser produzidos no citoplasma, nas mitocôndrias e nas membranas celulares (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1998; BARREIROS, 2006). O termo radical livre é definido como qualquer átomo ou molécula que apresente um ou mais elétrons desemparelhados em sua órbita externa. Esta configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, de meia-vida curta e muito reativas quimicamente (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990). Na natureza existem duas importantes substâncias geradoras de radicais livres, o oxigênio no estado fundamental (O_2) e o óxido nítrico (NO) (ROVER JÚNIOR, 2001). Durante o metabolismo, tais substâncias podem gerar componentes altamente reativos denominados espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN).

As lesões causadas pelos radicais livres nas células podem ser prevenidas ou reduzidas por meio do sistema de defesa antioxidante, formado por compostos enzimáticos e não-enzimáticos, estando presentes tanto no organismo, como em muitos alimentos (PAPAS, 1999). Dentre os antioxidantes obtidos a partir da dieta, estão incluídas micromoléculas com capacidade de atuar em compartimentos biológicos, constituindo as principais substâncias deste grupo o tocoferol, o ascorbato, os compostos fenólicos e os carotenóides (HUANG et al., 2005; BARREIROS, 2006).

Dentre os radicais livres, o oxigênio singlete (1O_2) representa a forma mais deletéria de oxigênio ao organismo. É uma molécula extremamente reativa, que pode ser gerada de diversas formas, seja por processos físicos, químicos e fotoquímicos, e que na presença de um antioxidante, pode ser inativado ou via processo químico, com formação de produtos de oxidação, ou mediante um processo físico de inativação com liberação de energia na forma de calor. A principal atividade antioxidante dos carotenóides é a inativação do oxigênio singlete, pois o processo físico é predominante, sendo que a velocidade para essa reação é superior a dos tocoferóis (DI MASCIO; KAISER; SIES, 1989).

A estrutura química dos carotenóides é o elemento responsável pelo seu potencial antioxidante, o qual está relacionado à presença de duplas ligações conjugadas, que tornam possível a captação de radicais livres. Além disso, os tipos de grupamentos terminais (cíclicos ou acíclicos) e a natureza dos substituintes em carotenóides de cadeias cíclicas, influenciam na ação supressora de radicais livres destes compostos (KIOKIAS, 2004).

A atividade antioxidante, *in vitro*, dos carotenóides foi bem estabelecida pela descrição de suas propriedades de supressão do oxigênio singlete (FOOTE; DENNY, 1968) e sua habilidade em sequestrar radicais peroxilas (ERDMAN, 1999). Em sistemas biológicos, os carotenóides são capazes de captar energia do oxigênio singlete, que volta ao estado fundamental (O_2). O carotenóide excitado resultante libera baixa energia sendo, nesta situação, inofensivo ao meio celular. Contudo, os diferentes mecanismos sob os quais os carotenóides podem captar espécies reativas levam a uma variedade de radicais carotenóides e portanto, a múltiplos produtos finais. O potencial protetor ou deletério destes produtos finais depende da natureza do radical, de seu meio ambiente (aquoso ou lipídico) e de características estruturais, como terminal cíclico ou acíclico, grupos finais polares ou apolares, propriedades redox, entre outros (CERQUEIRA, MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

Segundo Olson (1999), os carotenóides sequestram o oxigênio singlete, removem os radicais peróxidos, modulam o metabolismo carcinogênico, inibem a proliferação celular, estimulam a comunicação entre células e elevam a resposta imune. Carotenóides como o β -caroteno, licopeno, zeaxantina e luteína, exercem funções antioxidantes em fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam as membranas lipoproteicas (SIES; STAHL, 1995).

O licopeno se destaca atualmente como um dos mais potentes antioxidantes dentre os carotenóides, pois possui maior capacidade sequestrante do oxigênio singlete sendo sugerido na prevenção da carcinogênese e aterogênese por proteger moléculas como lipídeos, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), proteínas e DNA (AGARWAL; RAO, 2000).

Por sua vez, os compostos fenólicos obtidos a partir da dieta, incluindo os flavonóides, exercem funções antioxidantes em meios hidrofílicos. Esses compostos são conhecidos por inibir a peroxidação lipídica e as lipoxigenases *in vitro*, diminuindo desta forma os riscos da aterosclerose, atuando na prevenção de doenças cardiovasculares e na absorção de produtos tóxicos oriundos da peroxidação lipídica (CHIANG et al., 2004; GORELIK et al., 2008). Os mecanismos de ação de inibição são relativos à capacidade dos fenólicos em sequestrar radicais livres, formados no início do processo de oxidação, bem como à sua atuação como quelantes de metais (WANASUNDARA; SHAHIDI, 1994). Portanto, alguns autores sugerem que estes compostos atuam nas etapas de iniciação e propagação do processo oxidativo, com formação também de produtos intermediários relativamente estáveis, em

decorrência da ressonância do anel aromático presente nos compostos fenólicos (FANG; YANG; WU, 2002). Similarmente, nos flavonóides (Quadro 1.3), os grupos OH do anel B podem doar um hidrogênio e um elétron aos radicais hidroxila, peroxila e peroxinitrito, estabilizando-os e transformando o flavonóide em uma molécula radical relativamente estável. Faz-se importante ressaltar que a glicosilação dos compostos fenólicos resulta em menor atividade antioxidante do que aquela apresentada pela aglicona correspondente (HEIM et al., 2002; CHOE; MIN, 2009).

Dos compostos antioxidantes mencionados, alguns apresentam natureza hidrofílica, como os compostos fenólicos e flavonóides, e outros são claramente de natureza lipofílica, como os carotenóides. Devido à diversidade química de antioxidantes alimentícios e às diferenças de polaridade entre os mesmos, a determinação da atividade antioxidante total não é considerada apropriada para expressar a contribuição individual de cada componente nessa atividade. Porém, a determinação do poder antioxidante total é considerada mais significativa na avaliação dos efeitos benéficos para a saúde (prevenção do estresse oxidativo, doenças relacionadas) dos antioxidantes, pois reflete a ação sinérgica entre os mesmos (GHISELLI et al., 2000; CELIK et al., 2010).

Além disso, foi bem estabelecido que a maioria dos compostos antioxidantes exibe capacidade sequestrante distinta em meios aquosos ou lipofílicos. O tipo de solvente utilizado e a polaridade do mesmo pode afetar o mecanismo da atividade antioxidante de forma significativa (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006). Por este motivo, para uma avaliação mais acurada da medida da capacidade antioxidante, muitos autores realizam essa avaliação em diferentes extratos contendo diferentes solventes extratores, de acordo com a polaridade de cada componente (HALLIWELL, 1995; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006; ALOTHMAN; BHAT; KARIM, 2009; SULAIMAN et al., 2011).

Tlili et al. (2011b) analisaram a atividade antioxidante dos compostos bioativos presentes em diferentes cultivares de melancia e concluíram que os compostos fenólicos e flavonóides são os principais compostos que contribuem para a atividade antioxidante hidrofílica da melancia. A atividade antioxidante lipofílica de frutos que contêm licopeno, como o tomate e a melancia, tem sido atribuída principalmente à presença desse carotenóide (LENUCCI et al., 2006; ILAHY et al., 2011; TLILI et al. 2011b). Tlili et al. (2011b) verificaram uma

significativa correlação entre a atividade antioxidante lipofílica e o licopeno presente na melancia.

1.6.1 Métodos de determinação da atividade antioxidante

Diversos métodos têm sido utilizados para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes na prevenção de doenças crônico-degenerativas. Os métodos de avaliação da atividade antioxidante podem ser divididos em dois grupos: métodos baseados nas reações de transferência de elétron (TE) e métodos baseados nas reações de transferência de átomos de hidrogênio (TAH), de acordo com as reações químicas envolvidas e com a classificação dos compostos antioxidantes (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Os ensaios que envolvem reações de TE estão baseados na medida do consumo de radicais livres estáveis quando é adicionado um agente antioxidante à solução. Esses métodos envolvem uma reação de oxi-redução, com o agente oxidante como indicador da reação final. O agente oxidante ao ser reduzido pelo antioxidante sofre mudanças colorimétricas. Desta forma, a intensidade da mudança de cor é proporcional à atividade deste antioxidante ou à concentração do mesmo (BENZIE, et al., 1999; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005; ROGINSKY; LISSI, 2005). Dentre estes métodos destacam-se o DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazila), ABTS [2,2, azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)] e FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro) (DUDONNE et al., 2009). Destes, o DPPH, que é um método de sequestro de radicais livres, consiste na descoloração de uma solução composta por radicais estáveis DPPH[•] de cor violeta quando ocorre a adição de substâncias antioxidantes (BRAND-WILLIAMS; CUEVELIER; BERSET, 1995; HUANG; OU; PRIOR, 2005), ou seja, seu fundamento baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. Esta metodologia apresenta como vantagens a simplicidade e a capacidade de avaliar a atividade antioxidante de produtos naturais em condições de temperatura ambiente (MOLYNEUX, 2004; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005; ROGINSKY; LISSI, 2005).

Por sua vez, dentre estes métodos, o FRAP é o único que não se baseia na capacidade de sequestrar radicais livres, baseando-se na capacidade de redução. Neste método, o complexo férrico-tripiridiltriaquina (Fe^{3+} -TPTZ) é reduzido ao complexo ferroso (Fe^{2+} -TPTZ), na presença de um antioxidante e em condições ácidas. O

complexo formado por esta reação possui uma coloração azul intensa, o que leva ao aumento da absorbância (BENZIE; STRAIN, 1996; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006). Vale ressaltar que os valores de pH têm efeito importante na redução da capacidade de antioxidantes. Em condições ácidas, a redução da capacidade pode ser suprimida devido à protonação com compostos antioxidantes, enquanto que em meio básico, ocorre a dissociação de prótons de compostos fenólicos que pode aumentar a capacidade de reduzir uma amostra (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Os ensaios baseados na TAH, geralmente utilizam um gerador sintético de radicais livres, um agente oxidante (marcador), e um antioxidante doador de átomos de hidrogênio. Aparentemente a reação de transferência de átomos de hidrogênio é a chave de uma das etapas da oxidação. O método baseado na TAH é mais relevante na capacidade antioxidante de interromper a cadeia da reação de oxidação. Devido às particularidades dos métodos, é extremamente difícil comparar os resultados entre os diferentes ensaios (HUANG, OU; PRIOR, 2005). Nos métodos de transferência de átomos de hidrogênio, são utilizados geradores térmicos de radicais que levam a fluxos constantes de radicais peroxil em soluções saturadas de ar. Ocorre competição entre o antioxidante adicionado e o oxidante (substrato) pelos radicais. Deste modo, a oxidação do substrato (oxidante) é inibida ou retardada. Os ensaios que apresentam estas características são: ensaio de ORAC (Capacidade de Absorção de Radicais Oxigênio); ensaio de descoloração da crocina, entre outros (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

1.7 Processos de separação por membranas

Os processos de separação por membrana (PSM) baseiam-se no princípio de permeação de um ou mais componentes de uma suspensão/solução através de uma membrana seletiva, permitindo desta forma, a concentração, o fracionamento e a purificação destes compostos (CHERYAN, 1998).

Esta tecnologia de separação iniciou-se na década de 60 sendo o seu uso limitado a laboratórios. A aplicação dos PSM foi difundida nas indústrias química (CAVACO et al., 2010); farmacêutica (XU; WANG, 2005); alimentícia (BAKER, 2004; HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006; MURAKAMI et al., 2011) e biotecnológica (CHERYAN, 1998); apresentando uma aplicação importante no tratamento de águas

residuais (HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006; SCHÄFER; FANE; WAITE et al., 2006).

Existem diversas vantagens apresentadas pelos PSM, entre elas, baixo consumo de energia; redução do número de etapas de processamento; simplicidade de operação; alta seletividade e eficiência na separação; além da obtenção de produtos com melhor qualidade pela condição de operação branda, visto que os processos são geralmente conduzidos a temperatura ambiente, o que permite preservar as características funcionais, nutricionais e sensoriais do produto obtido (MULDER, 1991; PETRUS, 1997; CHERYAN, 1998; BAKER, 2004; ORDÓÑEZ, 2005; HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006).

A membrana utilizada nos PSM pode ser definida como uma barreira seletiva de composição variável que separa um líquido de composição distinta. Esse transporte através da mesma pode ocorrer por difusão ou convecção e é induzido por um gradiente de potencial químico (pressão, concentração e temperatura) ou potencial elétrico (CHERYAN, 1998).

As membranas utilizadas nos PSM podem ser classificadas, principalmente, quanto:

- à sua natureza, podendo ser biológicas ou sintéticas;
- à sua composição, podendo ser orgânicas (poliméricas) ou inorgânicas (cerâmicas, metais e vidro);
- à sua estrutura morfológica, podendo ser porosas ou densas, ou ainda, isotrópicas (simétricas) ou anisotrópicas (assimétricas) (CHERYAN, 1998).

Do ponto de vista da evolução tecnológica, as membranas podem ser divididas em três gerações. As membranas de primeira geração foram desenvolvidas a partir do acetato de celulose e suas principais vantagens são a boa rejeição de sais e facilidade de fabricação, porém possuem algumas limitações de durabilidade, pois são sensíveis a agentes químicos de limpeza, variações de pH e temperatura, além de susceptíveis ao crescimento microbiano. As de segunda geração, também chamadas de membranas orgânicas ou poliméricas, possuem maior resistência tanto à ação de ácidos e bases fortes, quanto ao ataque de micro-organismos, além de permanecerem estáveis em temperaturas mais altas (até 100 °C). Porém, esse tipo de membrana apresenta baixa resistência à desinfetante à base de cloro e à compactação mecânica. A terceira geração inclui membranas de material cerâmico (inorgânicos), que possuem alta resistência mecânica,

são quimicamente inertes e mais estáveis, podendo tolerar condições de temperatura e pH mais agressivas do que as membranas poliméricas. Este tipo de membrana apresenta alto custo inicial, porém, maior tempo de vida útil e facilidade de limpeza (TOYOMOTO; HIGUCHI, 1992; PETRUS, 1997; CHERYAN, 1998; RIJN, 2005).

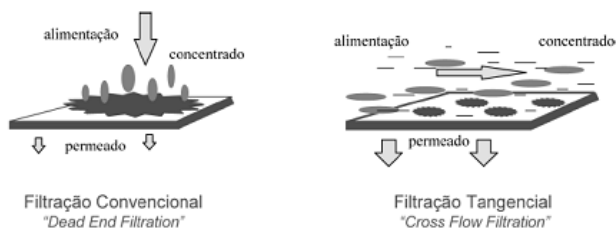
De um modo geral, morfologicamente, as membranas podem ser porosas ou densas. Tanto as membranas porosas quanto as densas podem ser isotrópicas (simétricas) ou anisotrópicas (assimétricas), ou seja, podem ou não apresentar as mesmas características morfológicas ao longo de sua espessura (HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006).

Além dessas classificações, a configuração do módulo, que dá suporte e acondiciona a membrana, representa mais uma variável importante nos PSM. As formas mais comuns de módulos são: tubular, pratos, espiral e capilar. Cada um desses tipos apresenta vantagens e desvantagens, que devem ser analisados de acordo com o tipo de processamento e material processado (OSADA; NAKAGAWA, 1992).

Nos PSM, o fluido escoar através da membrana e esta separa a corrente de entrada em duas correntes de saída, sendo o líquido que ultrapassa a membrana definido como permeado (filtrado) e o líquido que não ultrapassa a membrana definido como retentado (concentrado) (SCOTT; HUGHES, 1996; CHERYAN, 1998).

Segundo Habert, Borges e Nóbrega (2006), uma das principais características dos PSM é que eles podem ser operados em escoamento tangencial (*crossflow*), e também pela operação convencional do tipo filtração frontal (*dead end*) (Figura 1.3). Em sistemas convencionais de filtração, o fluido escoar perpendicularmente à membrana, aumentando o tempo de processo e depósito de solutos sobre sua superfície, sendo necessária limpeza mais frequente e manutenção. Na filtração de escoamento tangencial a solução ou suspensão escoar paralelamente à superfície da membrana, possibilitando o arraste dos solutos e limitando o acúmulo do material retido, enquanto o permeado é transportado transversalmente à mesma (RAUTENBACH; ALBRECHT, 1989; RIJN, 2005).

Figura 1.3 - Comparação esquemática entre filtração convencional (filtração frontal) e a filtração tangencial.



Fonte: Habert, Borges e Nóbrega (2006).

O fluxo de permeado (J) nos PSM é fortemente afetado pela pressão transmembrana, concentração da alimentação, temperatura e a turbulência da alimentação (provocada pela velocidade tangencial), sendo que alguns destes parâmetros são usados no controle e desempenho do processo (CHERYAN, 1998). Alguns dos parâmetros utilizados para controlar, quantificar e comparar a eficiência do processo são os seguintes:

- O fluxo de permeado (J) ($L/h.m^2$), que representa o volume de produto permeado que atravessa a área da membrana em um tempo determinado (RENNER; SALAM, 1991), que pode ser obtido através da Equação 1.

$$J = \frac{V_p}{t \cdot A_p} \quad \text{Equação 1}$$

onde V_p indica o volume do permeado obtido no tempo t , e A_p é a área de permeação da membrana;

- O fator de redução volumétrico (FRV), que avalia a redução do volume do fluido alimentado durante o processo, ou seja, a relação entre o volume no início do PSM (V_a) (L) e o volume do concentrado (V_c) (L) no final do processo, dado pela Equação 2 (GÖNDER; ARAYICI; BARLAS, 2011)

$$FRV = \frac{V_a}{V_c} \quad \text{Equação 2}$$

- O coeficiente de retenção (% R), que indica a fração de um componente solúvel que é retido pela membrana em relação às condições de volume do fluido (Equação 3) (GÖNDER; ARAYICI; BARLAS, 2011)

$$R(\%) = \left(1 - \frac{C_p}{C_c}\right) \cdot 100 \quad \text{Equação 3}$$

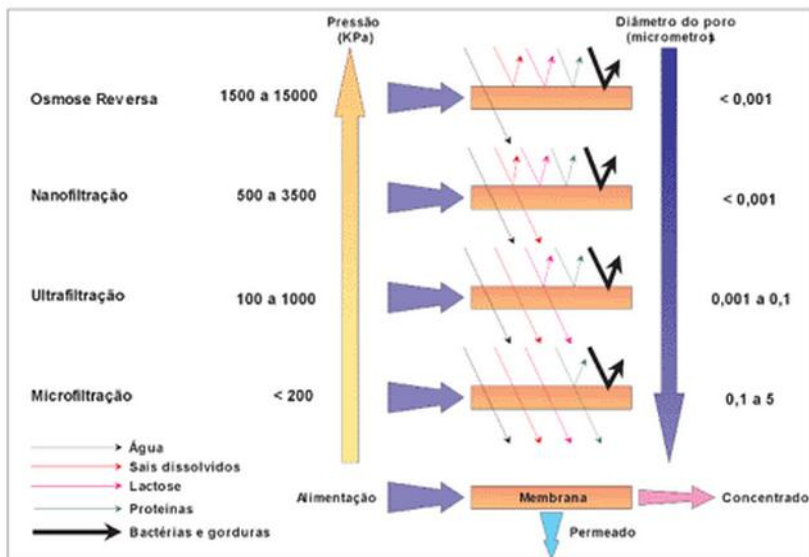
onde C_p representa a concentração do soluto no permeado e C_c a concentração do soluto no fluido concentrado.

As ocorrências de fenômenos inerentes aos processos de transporte seletivo, que limitam o fluxo de permeado, constituem inconvenientes que devem ser controlados. Durante os processos de separação, o desempenho da membrana pode mudar apresentando geralmente um decréscimo do fluxo de permeado (J) em função do tempo (a pressão constante) (NOBLE; STERN, 1995).

O declínio do fluxo pode ser causado por alguns fenômenos, dentre os quais se destacam a camada de polarização, um fenômeno reversível causado por um aumento da concentração de solutos retidos nas proximidades da superfície da membrana, resultando num fluxo contrário ao da permeação (NOBLE; STERN, 1995; SCHÄFER; FANE; WAITE, 2006); a formação de camada de gel, que ocorre quando moléculas de alta massa molar estão presentes na solução (hidrocolóides e proteínas) devido à alta rejeição destes compostos e entupimento dos poros (NOBLE; STERN, 1995; CHERYAN, 1998; ALICIEO et al., 2007); e o efeito *fouling*, que resulta na redução no fluxo de permeado ao longo do processo e que se caracteriza pelo aumento da resistência à passagem do solvente através da membrana, causado pela adsorção de moléculas tanto na superfície como dentro dos poros da membrana, alterando suas características de retenção, sendo as proteínas e as gorduras as principais causadoras (NOBLE; STERN, 1995; ALICIEO et al., 2007). O controle da camada de polarização e da formação da camada de gel mediante o ajuste de parâmetros operacionais é essencial para a viabilidade econômica dos processos com membranas (PORTER, 1990). A seleção da membrana adequada, assim como a otimização de métodos de pré-tratamento e limpeza de membranas constituem soluções clássicas para o *fouling* (VAN DER BRUGGEN; MÄNTTÄRI; NYSTRÖMB, 2008).

Para a indústria de alimentos, os PSM de maior interesse incluem a microfiltração (MF), a ultrafiltração (UF), osmose reversa (OR) e a nanofiltração (NF). Esses processos, cuja força motriz é a pressão hidráulica e o método de filtração é tangencial, diferem entre si basicamente no tamanho médio dos poros das membranas filtrantes, o que implica na necessidade de diferentes faixas de pressão transmembrana (Figura 1.4) (PORTER, 1990). Desta forma, o tamanho médio dos poros é uma informação relevante a ser considerada na escolha da membrana a ser utilizada. Esta informação é dada principalmente pelos fabricantes ou encontrada na literatura. Como as técnicas de fabricação de membranas porosas geralmente não fornecem poros necessariamente do mesmo tamanho, grande parte delas é especificada por um diâmetro de corte nominal ou *cutt-off*. O diâmetro de corte nominal (expresso em Daltons ou em g/mol) é definido como o valor da massa molar do menor componente que será retido pela membrana, para o qual a mesma apresenta coeficiente de rejeição de 95 % (MOLDER, 2000; HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006).

Figura 1.4 - Características dos processos de separação por membrana.



Fonte: Mierzwa et al. (2008).

Na osmose reversa (OR) a membrana possui diâmetro de poro menor do que $0,001 \mu\text{m}$. Este processo utiliza a difusão como mecanismo de separação e se caracteriza pela retenção da maior parte dos compostos orgânicos dissolvidos, incluindo sais, açúcares e até 99 % de todos os íons, permeando apenas o solvente (NOBLE; STERN, 1995; FERRARINI; VERSARI; GALASSI, 2001). As principais aplicações deste processo estão na área de concentração de alimentos líquidos e dessalinização de águas (GIRARD; FUKUMOTO, 2000; BESSENASSE; KETTAB; MOULLA, 2010). No entanto, na ultrafiltração (UF) são retidas apenas macromoléculas ou partículas maiores que $0,01 \mu\text{m}$. Desta forma, a OR é caracterizada como um processo de recuperação de solvente enquanto a UF é considerada um método de purificação, concentração e fracionamento de macromoléculas ou suspensões coloidais. Na indústria de alimentos a UF é usada principalmente para concentração de leite, recuperação de proteínas do leite, concentração de ovos, clarificação de sucos de frutas e vegetais (MULDER, 1991; BARROS, 2003; VLADISAVLJEVIĆ et al., 2003; HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006; CASSANO et al.,

2009). Já a microfiltração (MF) é normalmente usada para clarificação, retenção e separação de moléculas grandes (como glóbulos de gordura e proteínas) em suspensão. As principais aplicações de MF nas indústrias são com o objetivo de clarificação e esterilização (CHERYAN, 1998; RIJN, 2005; HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006; DEBON, 2010).

1.7.1 Nanofiltração

A nanofiltração (NF) é definida como um PSM que apresenta propriedades entre a UF e a OR devido a sua capacidade de separar e fracionar substâncias com baixa massa molar, possuindo diâmetro de poros correspondentes a uma faixa de 0,01 a 0,001 μm , sendo possível separar moléculas com massa molar na faixa de 100 a 1000 g/mol ou daltons (Da) (HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006; VAN DER BRUGGEN; MÄNTTÄRI; NYSTRÖM, 2008).

A NF foi introduzida no final do ano 1980 principalmente com o objetivo de remoção de substâncias orgânicas no tratamento de águas residuais e na produção de água potável, sendo que estas continuam sendo suas principais aplicações (SUTHERLAND, 2008; VAN DER BRUGGEN; MÄNTTÄRI; NYSTRÖMB, 2008).

As membranas são fundamentais no desempenho do sistema de NF, sendo o formato em espiral o mais utilizado (HABERT; BORGES; NÓBREGA, 2006 SUTHERLAND, 2008).

Um dos principais motivos pelo qual a NF é um processo bastante promissor à indústria alimentícia é que a concentração de compostos bioativos presentes em alimentos é favorecida, podendo o teor destas substâncias ser aumentado, o que representa um grande interesse tanto na indústria alimentícia quanto na indústria farmacêutica. Alguns exemplos da aplicação da NF na área de alimentos incluem concentração de catequinas e compostos fenólicos do chá verde (NWUHA, 2000); flavonóides e terpenóides presentes no extrato de *Ginkgo biloba* (XU; WANG, 2005); xantofilas presentes em extrato de milho (TSUI; CHERYAN, 2007); flavonóides e compostos fenólicos em extrato de própolis (MELLO; PETRUS; HUBINGER, 2010); compostos fenólicos em extrato aquoso de folhas de erva-mate (MURAKAMI et al., 2010); isoflavonas presentes em extrato desengordurado de soja (BENEDETTI et al., 2011); antocianinas a partir de extrato de vinagreira (*Hibiscus sabdariffa* L.) (CISSÉ et al., 2011); compostos fenólicos em suco de bergamota (CONIDI; CASSANO; DRIOLI, 2011); compostos fenólicos em extrato aquoso da casca do resíduo da

erva-mate (PRUDÊNCIO et al., 2012); compostos fenólicos em licor extraído a partir de cascas de laranjas prensadas (CONIDI; CASSANO; DRIOLI, 2012).

Não foram encontrados trabalhos na literatura que reportem a aplicação da NF como processo de concentração de licopeno. Considerando as propriedades desta tecnologia e suas vantagens em relação a outros métodos de concentração, pela possibilidade de preservar os componentes termolábeis de alimentos, ressalta-se a importância da aplicação da NF para a concentração de licopeno presente no suco de melancia.

Referências

ABU-REIDAH, I. M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Profiling of phenolic and other polar constituents from hydro-methanolic extract of watermelon (*Citrullus lanatus*) by means of accurate-mass spectrometry (HPLC–ESI–QTOF–MS). **Food Research International**, v. 51, p. 354–362, 2013.

AGARWAL, S.; RAO, A.V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **Canadian Medical Association Journal**, v.163, n.6, p.739-44, 2000.

ALICIEO, T. V. R.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; BARROS, S. T. D.; ALVES, J. A. Avaliação do fouling na microfiltração de cerveja – estudo das resistências. **Acta Science Technology**, v.29, n.2, p.151-156, 2007.

ALMEIDA, D. P. F. **A Cultura da melancia**. Porto: Universidade do Porto, 2003. Disponível em: <<http://dalmeida.com/hortnet/Melancia.pdf>>. Acesso em: 23 mai. 2012.

ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, p. 785–788, 2009.

ARAB, L.; STECK, S. Lycopene and cardiovascular disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, n.6, p.1691-5, 2000.

ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I. S.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the brazilian population. **Journal Agricultural. Food Chemistry**. v. 52, p. 1124-1131, 2004.

AUST, O.; SIES, H.; STAHL, W.; POLIDORI, M.C. Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: tocopherols and carotenoids. **Journal of Chromatography**, v.936, p.83-93, 2001.

BAKER, R. W. **Membrane technology and applications**. Chichester : John Wiley & Sons Ltd., p.538, 2004.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.1, p.113-23, janeiro/fevereiro 2006.

BARROS, S. T. D. de; ANDRADE, C. M. G.; MENDES, E. S.; PERES, L. Study of fouling mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltration, **Journal of Membrane Science**, v.215, p.213-224, 2003.

BENEDETTI, S.; PRUDÊNCIO S., E.; MANDARINO G., J.M.; REZZADORI, K.; PETRUS C., J.C. Concentration of soybean isoflavones by nanofiltration and the effects of thermal treatments on the concentrate, **Food Research International**, In Press, 2011.

BESSENASSE, M.; KETTAB, A.; MOULLA, A. S. Seawater desalination : Study of three coastal stations in algiers region. **Desalination**, v. 250, p.423-427, 2010.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical biochemistry**, v.239, p.70-76, 1996.

BENZIE, I.F.F., STRAIN,J.J. Ferric reducing/antioxidnt power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods Enzymol**, v. 299, p.15-27, 1999.

BOILEAU, T.W.M; CLINTON, S.K.; ERDMAN, J.W. Tissue lycopene concentrations and isomer patterns are affected by androgen status and dietary lycopene concentration in male F344 rats. **Journal of Nutrition**, v.130, p.1613-8, 2000.

BOURNE, L. C.; RICE-EVANS, C.A. Detecting and measuring bioavailability of phenolics and flavonoids in humans: pharmacokinetics of urinary excretion of dietary ferulic acid. **Methods in Enzimology**, San Diego, v.299, p.91-106, 1999.

BRAMLEY, P. M. Is lycopene beneficial to human health? **Phytochemistry**, v.54, n.3, p.233-236, 2000.

CARVALHO, J.C.T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRS/Editora da UFSC, p.519-535, 2007.

CASSANO, A.; TASSELLI, F.; CONIDI, C; DRIOLI, E. Ultrafiltration of Clementine mandarin juice by hollow fibre membranes. **Desalination**, v.241, p.302-308, 2009.

CASTELLANE, P. D.; CORTEZ, G. E. P. **A cultura da melancia**. Jaboticabal. Funep, p.64, 1995.

CAVACO S. G., S.; QUINA, M.J.; GANDO-FERREIRA L. M. Nanofiltration process for separating Cr (III) from acid solutions: Experimental and modelling analysis. **Desalination**, v.254, p.80–89, 2010.

CELIK, S.E.; OZYUREK, M.; GUCLU, K.; APAK, S. Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods. **Talanta**, v. 81, p. 1300–1309, 2010.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, A. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.2, p.441-449, 2007.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and microfiltration handbook**. CRC Press, New York, 1998.

CHIANG, L.C.; CHENG, H.Y.; LIU, M.C.; CHIANG, W.; LIN, C.C. *In vitro* evaluation of antileukemic activity of 17 commonly used fruits and

vegetables in Taiwan. **LWT – Food Science and Technology**, v. 37, p. 539–544, 2004.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods.

Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v. 8, p. 345-358, 2009.

CISSÉ, M.; VAILLANT, F.; PALLET, D.; DORNIER, M. Selecting ultrafiltration and nanofiltration membranes to concentrate anthocyanins from roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.). **Food Research International**, v. 44, p. 2607–2614.

CLARETO, S. S. **Estudo da concentração de licopeno de polpa de goiaba utilizando o processo de microfiltração**. 2007. 173 f. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos- Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2007.

CLEVIDENCE, B.A.; EDWARDS, A.J. Watermelon packs a powerful lycopene punch, **Agricultural Research magazine**, 2002. Disponível em:
<<http://ars.usda.gov/IS/AR/archive/jun02/lyco0602.htm>>. Acesso em: 20 jun 2012.

CONIDI, C., CASSANO, A., DRIOLI, E. A membrane-based study for the recovery of polyphenols from bergamot juice. **Journal of Membrane Science**, v. 375, p.182–190, 2011.

CONIDI, C., CASSANO, A., DRIOLI, E. Recovery of phenolic compounds from orange press liquor by nanofiltration. **Food and Bioproducts Processing**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2012.07.005>, 2012.

DEBON, J. **Emprego da microfiltração tangencial na obtenção de leite fermentado prebiótico**. 2010. 122 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Programa de Pós-graduação em engenharia de alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

DI MASCIO, P.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.274, p.532-538, 1989.

DREOSTI, J. E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine.

Nutrition, v.16, p. 692 - 694, 2000.

DUDONNE, S.; VITRAC, X.; COUTIERE, P.; WOILLEZ, M.;

MERILLON, J. M. Comparative study of antioxidant properties and

total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using

DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.1768-1774, 2009.

EDWARDS, A.J.; VINYARD, B.T.; WILEY, E.R.; BROWN, E.D.;

COLLINS, J.K.;

PERKINS-VEAZIE, P.; BAKER, R.A.; CLEVIDENCE, B.A.

Consumption of watermelon juice increases plasma concentration of lycopene and β -carotene in humans. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 4, p. 1043–1050, 2003.

EFSA – European Food Safety Authority. Use of lycopene as a food colour. **The EFSA Journal**, v.674, p.1-66, 2008.

ERDMAN, J.W. Variable bioavailability of carotenoids from

vegetables. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, n.2, p.179-80, 1999.

FANG, Y. Z.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants, and

nutrition. **Nutrition**, v. 18, p. 872-879, 2002.

FAO Statistical Databases. Disponível em <<http://www.fao.org>>.

Acesso em: 05 dez 2012.

FERRARINI, R.; VERSARI, A.; GALASSI, S. A preliminary comparison between

nanofiltration and reverse osmosis membranes for grape juice treatment,

Journal of Food Engineering, v.50, p.113-116, 2001.

FERREIRA, J.E.M. **Cinética e fatores que influenciam na**

degradação de carotenóides em sistemas modelos e alimentos.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Engenharia de Alimentos.

Campinas: Universidade Estadual de Campinas, p.37, 2001.

FOOTE, C. S.; DENNY, R. W. Chemistry of singlet oxygen quenching by Beta-carotene. **Journal of the American Chemical Society**, v.90, n.22, p.6233-6235, 1968.

GERTH, C.; MORRISEY, B.M.; CROSS, C.E.; WERNER, J.S. Lutein, zeaxanthin, macular pigment, and visual function in adult cystic fibrosis patients. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.1045-1052, 2004.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 29, p. 1106, 2000.

GIOVANNUCCI, E.; ASCHERIO, A.; RIMM, E.B.; STAMPFER, M.J.; COLDITZ, G.A.; WILLET, W.C. Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v.87, n.3, p.1767-76, 1995.

GIOVANNUCCI, E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. **Journal of National Cancer Institute**, v.91, p.317-331, 1999.

GIOVANNUCCI, E.; RIMM, E.B.; LIU, Y.; STAMPFER, M.J.; WILLETT, W.C. A prospective study of tomato products, lycopene and prostate cancer risk. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v.94, n.5, p. 391-398, 2002.

GIRARD, B.; FUKUMOTO, L. R. Membrane processing of fruit juices and beverages: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.40, n.2, p.91-157, 2000.

GORELIK, S.; LIGUMSKY, M.; KOHEN, R.; KANNER, J. A novel function of red wine polyphenols in humans: prevention of absorption of cytotoxic lipid peroxidation products. **The FASEB Journal Research Communication**, v. 22, p. 41-46, 2008.

GROSS, J. **Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids**. Boca Raton: Chapman & Hall, 1991.

HABERT, A.C.; BORGES, C.P.; NÓBREGA, R. **Processos de separação com**

membranas. Rio de Janeiro: E-papers, p.180, 2006.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in Enzymology**, v.186, p.1-85, 1990

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 2ªed. Oxford University Press, 1998.

HANDELMAN, G.J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. **Journal of Nutrition**, v.17, p.818-822, 2001.

HASLER, C.M. Functional foods: benefits, concerns and challenges – A position paper from american council on science and health . **The Journal of Nutrition**, Florida, v.132, n.12, p.3772-3781, Dec. 2002.

HEBER, D. Colorful cancer prevention: β -carotene, lycopene, and lung cancer. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, n.4, p.901-2, 2000.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 572-584, 2002.

HUANG, D.;OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.6, p.1841-1856, 2005.

HUANG, J.P.; ZHANG, M.; HOLMAN, A.J.; XIE, W. Dietary carotenoids and risk of breast cancer in Chinese women. **Asia Pacific. Journal of Clinical Nutrition**, v.16, p. 437-442, 2007.

ILAHY, R.; HDIDER, C.; LENUCCI, M. S.; TLILI, I.; DALESSANDRO, G. Antioxidant activity and bioactive compound changes during fruit ripening of high-lycopene tomato cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 588–595, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. Disponível em:

<[http://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_\[anual\]/2011/tabelas_pdf/tabela02.pdf](http://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_[anual]/2011/tabelas_pdf/tabela02.pdf)>. Acesso em:05 dez. 2012.

HALLIWELL, B. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v.33, p.601-617, 1995.

KIOKIAS, S.; GORDON, M. H. Antioxidant Properties of Carotenoids in vitro and in vivo. **Food Reviews International**, v.20, n.2, p.99–121, 2004.

KOH, H.; MURRAY, I.J.; NOLAN, D.; CARDEN, D.; FEATHER, J.; BEATTY, S. Plasma and macular responses to lutein supplement in subjects with and without age-related maculopathy: a pilot study. **Experimental Eye Research**, v.79, p.21-27, 2004.

KRINSKY, N.I. Carotenoids as antioxidants. **Nutrition**, v.17, p.815-7, 2001.

KRINSKY, N.I.; JOHNSON, E.J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v.26, p.459-516, 2005.

KRIS-ETHERTON, P.M.; HECKER, K.D.; BONANOME, A.; COVAL, S.M.; BINKOSKI, A.E.; HILPERT, K.F. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, v.113, n.9B, p.71S-88S, 2002.

LENUCCI, M.S.; CADINU, D.; TAURINO, M.; PIRO, G.; DALESSANDRO, G. Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2606–2613, 2006.

MELLO, B.C.B.S.; PETRUS, J. C. C.; HUBINGER, M. D. Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. **Journal of Food Engineering**, v.96, p.533–539, 2010.

MICHAUD, D.S.; FESKANICH, D.; RINN, E.B.; COLDITZ, G.A.; SPEIZER, F.E.; WILLET, W.C.; et al. Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospective US cohorts. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, n.4, p. 990-7, 2000.

MIERZWA, J.C.; SILVA, M.C.C. da.; RODRIGUES, L.D.B.; HESPANHOL, C. Tratamento de água para abastecimento público por ultrafiltração: avaliação comparativa através dos custos diretos de implantação e operação com os sistemas convencional e convencional com carvão ativado. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.78, n.13, p.78- 87, 2008.

MIKHAK, B., HUNTER, D.J.; SPIEGELMAN, D.; PLATZ, E.A.; WU, K.; ERDMAN, J.W.; GIOVANNUCCI, E. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism, interactions with carotenoids levels and prostate cancer risk. **Carcinogenesis**, v.29, p.2335-2340, 2008.

MIRANDA, K. F. **Estudo da concentração de licopeno por ultrafiltração a partir de suco de melancia**. Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, p.149, 2005.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal Science Technology**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MORI, E. E. M. **Suco de melancia [*Citrullus lanatus* (Tunberg) Matsumura and Nakai]: processamento, formulação, caracterização física, química, microbiológica e aceitabilidade**. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, p.54, 1996.

MORITZ, B.; TRAMONTE, V. L. C. Biodisponibilidade do licopeno. **Revista de Nutrição**, v.19, n.2, p.265-273, 2006.

MOLDER, W. H. Milk Processing. In: SHURYO, N.; MOLDER, W. H. **Food Protein Processing Applications**, p. 1-88, 2000.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology**. Kluwer Academic Publishers, p.363, 1991.

MURAKAMI, N., A.N.; AMBONI D.M.C., R.; PRUDÊNCIO S., E.; AMANTE, E.R.; ZANOTTA, M.M.; PETRUS C., J. C.; TEÓFILO, R. F. Concentration of phenolic compounds in aqueous mate (Ilex

paraguariensis A. St. Hil) extract through nanofiltration. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, p. 2211–2216, 2011.

NGUYEN, M. L.; SCHWARTZ, S. L. Lycopene: chemical and biological properties. **Food Technology**, v.53, n.2, p.38-45, 1999.

NISHINO, H.; MURAKOSHI, M.; TOKUDA, H.; SATOMI, Y. Cancer prevention by carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.483, p.165-168, 2009.

NWUHA, V. Novel studies on membrane extraction of bioactive components of green tea in organic solvents: part I. **Journal of Food Engineering**, v.44, p.233-238, 2000.

OLIVER, J.; PALOU, A.; PONS, A. Semi-quantification of carotenoids by highperformance liquid chromatography: saponification-induced losses in fatty foods. **Journal of Chromatography Analysis A**, v.829, n.1-2, p.393-399, 1998.

OLSON, J.A. Carotenoids and human health. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.49, n.3, p.7-11, 1999.

OMS-OLIU, G.; ODRIÓZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effects of high-intensity pulsed electric field processing conditions on lycopene, vitamin C and antioxidant capacity of watermelon juice. **Food Chemistry**, v.115, p.1312–1319, 2009.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnología de alimentos – Componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005.

OSADA, Y.; NAKAGAWA, T. **Membrane Science and Technology**. Marcel dekker, Inc., New York, 1992.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 791–800, 2006.

PETRUS, J. C. C. **Preparação, Modificação e Caracterização de Membranas Assimétricas para Clarificação de Suco de Frutas.** Tese de Doutorado Faculdade De Engenharia de Alimentos. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, p. 139, 1997.

PORCU, O.M. **Fatores que influenciam na composição de carotenóides em goiaba, acerola, pitanga e seus produtos processados.** Tese de Doutorado – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2004.

PORTER, M. C. **Handbook of industrial membrane technology.** New Jersey: Noyes, p.604, 1990.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4290-4302, 2005.

PRUDÊNCIO, A. P. A.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C.; MURAKAMI, A. N. N.; MARASCHIN, M.; PETRUS, J. C. C.; OGLIARI, P. J.; LEITE, R. S. 2012. Phenolic composition and antioxidant activity of the aqueous extract of bark from residues from mate tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) bark harvesting concentrated by nanofiltration. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 399–405, 2012.

RAO, A.V.; AGARWAL, S. Bioavailability and *in vivo* antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. **Nutrition and Cancer**, v. 31, n. 3, p. 199-203, 1998.

RAO, A.V.; AGARWAL, S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 5, p. 563-9, 2000.

RAO, A.V.; SHEN, H. Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. **Nutrition Research**, Indianapolis, v. 22, n. 10, p. 1125-1131, Oct. 2002.

RAUTENBACH, R. ALBRECHT, R. **Membrane Processes**. John Wiley & Sons Ltd, New York, 1989.

RAWSON, A.; TIWARI, B.K.; PATRAS, A.; BRUNTON, N.; BRENNAN, C.; CULLEN, P.J.; O'DONNELL, C. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. **Food Research International**, v. 44, p. 1168–1173, 2011.

RENNER, E; SALAM, M.H.A. Basic principles. In: RENNER, E.; SALAM, M.H.A. **Application of ultrafiltration in the industry**. London: Elsevier Science, cap.2, p.729, 1991.

RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de Alimentos**. Instituto Mauá de Tecnologia. Editora Edgard Blucher Ltda, 1^a edição, São Paulo, p. 155-157, 2004.

RIBEIRO, S. M. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, v.21, n.3, p.133-149, setembro/dezembro, 2005.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. **Handbook of Enology – vol. 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments**. Wiley & Sons, West Sussex, UK, 2006.

RIJN C.J.M, **Nano and Micro Engineered Membrane Technology**, Elsevier, Amsterdam, 2005.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B.; AMAYA-FARFAN, J. Estado actual de los métodos analíticos para determinar provitamina A. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.42, p.180-199, 1992.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: Opportunities for Micronutrient Intervention (OMNI), 1999a.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B. Latin american food sources of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 49, n.1, p. 74-84, 1999b.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in foods. **EUA: OMNI Research**, p. 64, 2001.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B. Brazil: a bounty of carotenoid source. **Sight and life newsletter**, v.4, p.3-9, 2002a.

ROGINSKY, V.; LISSI, E.A. Review of methods to determine chain breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

ROVER JÚNIOR, L. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 112-119, janeiro/fevereiro 2001.

SALDANHA, L. A. **Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* em extratos de ervamate (*Ilex paraguariensis*) verde e tostada e chá verde (*Camélia sinensis*)**. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, 2005.

SANDERS, T.A.B. Dietary Fat – Weighing up the Pros and Cons. **Nutrition and Food Science**, v. 94, n. 5, p. 9-13, set/out., 1994.

SCHÄFER, A.I.; FANE, A.G; WAITE, T.D. **Nanofiltration – Principles and Applications**. Elsevier, Great Britain, 2006.

SCOTT, K.; HUGHES, R. Introduction to industrial membrane processes. In: SCOTT, K.; HUGHES, R. **Industrial membrane separation technology**. 1. ed. Glasgow: Blackie academic & professional, p. 1-7, 1996.

SHI, J.; LE MAGUER, M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. **Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 1, p. 1-42, 2000.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angewandte Chemie (International ed. In English)**, v. 25, p. 1058-1071, 1986.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n.6, p.1315-21, 1995.

SPANOS, G. A.; WROLSTAD, R. E. Phenolics of apple, pear and white grape nectars and their changes with processing and storage, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 1478–1487, 1992.

STAHL, W.; SIES, H. Carotenoids: occurrence, biochemical activities, and bioavailability. In: Packer L, Hiramatsu M, Yoshikawa T. **Antioxidant Food Supplements in Human Health**. San Diego: Academic Press; p.183-98, 1999.

SULAIMAN, S. F.; SAJAK, A. A. B.; OOI, K. L.; SUPRIATNO; SEOW, E. M. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 506–515, 2011.

SUTHERLAND, K. Developments in filtration: What is nanofiltration? **Filtration and Separation**, v. 45, n. 8, p. 32-35, 2008.

TANG, L.; JIN, T.; ZENG, X.; WANG, J. Lycopene inhibits the growth of human androgenindependent prostate cancer cells in vitro and in BALB/c nude mice. **Journal of Nutrition**, v. 135, p. 287-290, 2005

TAPIERO, H.; TOWNSEN, D.M; TEW, K.D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedical Pharmacotherapy**, v. 58, p. 100-110, 2004.

TARAZONA-DÍAZ, M. P.; VIEGAS, J.; MOLDAO-MARTINS, M.; AGUAYO, E. Bioactive compounds from flesh and by-product of fresh-cut watermelon cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 805–812, 2011.

TESSARIOLI, N. J.; GROPPPO, G. A. **A cultura da Melancia**. Boletim Técnico. CATI, Campinas, SP. n. 213, p. 11, 1992.

TLILI, I.; HDIDER, C.; LENUCCI, M. S.; ILAHY, R.; JEBARI, H.;

DALESSANDRO, G. Bioactive compounds and antioxidant activities of different watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld) cultivars as affected by fruit sampling area. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 307-314, 2011a.

TLILI, I.; HDIDER, C.; LENUCCI, M. S.; ILAHY, R.; JEBARI, H.; DALESSANDRO, G. Bioactive compounds and antioxidant activities during fruit ripening of watermelon cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 923-928, 2011b.

TOYOMOTO, K.; HIGUCHI, A. **Microfiltration and ultrafiltration**, NY, Marcel Dekker Inc., 1992.

TSUI, E. M.; CHERYAN, M. Membrane processing of xanthophylls in ethanol extracts of Corn. **Journal of Food Engineering**, v. 83, p. 590-595, 2007.

VAN DER BRUGGEN, B.; MÄNTTÄRI, M.; NYSTRÖM, M. Drawbacks of applying nanofiltration and how to avoid them: A review. **Separation and Purification Technology**, v. 63, p. 251-263, 2008.

VLADISAVLJEVIĆ, G. T.; VUKOSAVLJEVIĆ, P.; BUKVIĆ, B. Permeate flux and foulingresistence in ultrafiltration of depectinized apple juice using ceramic membranes. **Journal of Food Engineering**, v. 60, p. 241-247, 2003.

WANASUNDARA, U. N.; SHAHIDI, F. Stabilization of canola oil with flavonoids. **Food Chemistry**, v. 50, p. 393-396, 1994.

WEISBURGER J. H. Lycopene and tomato products en health promotion: mediterranean diet in disease prevention. **Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 227, n. 10, p. 924- 927, Apr. 2002.

WILLIS, M.S.; WIANS, J.F.H. The role of nutrition in preventing prostate cancer: a review of the proposed mechanism of action of various dietary substances. **Clinica Chimica Acta**, v. 330, p. 57-83, 2003.

XU, L.; WANG, S. The *Ginkgo biloba* extract concentrated by nanofiltration. **Desalination**, v. 184, p. 305-313, 2005.

YANEZ, J. A.; ANDREWS, P. K.; DAVIES, N. M. Methods of analysis and separation of chiral flavonoids. **Journal of Chromatography B**, v. 848, p. 159-181. 2007.

ZHANG, J.; DHAKAL, I.; STONE, A.; NING, B.; GREENE, G.; LANG, N.P.; KADLUBAR, F.F. Plasmacarotenoids and prostate cancer: a population-based case-control study in Arkansas. **Nutrition and Cancer**, v. 59, p. 46-53, 2007a.

Capítulo 2

Potencial do processo de nanofiltração na concentração de compostos bioativos do suco de melancia (*Citrullus lanatus*).

Potencial do processo de nanofiltração na concentração de compostos bioativos do suco de melancia (*Citrullus lanatus*).

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial da nanofiltração na separação e concentração de compostos bioativos presentes no suco de melancia, além de investigar a sua capacidade antioxidante. O teor de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais presentes nos concentrados aumentou conforme o fator de redução volumétrico (FRV) foi aumentado, sendo que estes valores foram superiores aos obtidos no suco de melancia. O melhor desempenho na concentração de compostos bioativos do suco de melancia foi obtido no FRV 3, alcançando os teores mais elevados de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais. O maior coeficiente de retenção foi obtido para o licopeno, seguido pelo coeficiente de retenção dos flavonóides e compostos fenólicos totais. A atividade antioxidante de extratos lipofílicos e hidrofílicos (LAA e HAA, respectivamente) foi determinada através de dois métodos, isto é, a capacidade de antioxidantes em sequestrar o radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH[•]) e o potencial antioxidante redutor férrico (FRAP). Os valores referentes ao HAA foram superiores aos valores referentes ao LAA em ambos os métodos. A atividade antioxidante das amostras concentradas aumentou à medida que o valor de FRV foi incrementado. Por fim, observou-se uma correlação altamente significativa entre o conteúdo de flavonóides, compostos fenólicos, ácido ascórbico e licopeno, e os seus potenciais antioxidantes em ambas as frações HAA e LAA.

Palavras-chave: suco de melancia, nanofiltração, licopeno, flavonóides, compostos fenólicos, atividade antioxidante.

Potencial of nanofiltration process in the concentration of bioactive compounds from watermelon juice (*Citrullus lanatus*).

Abstract

The aim of this work was to evaluate the potential of nanofiltration for the separation and concentration of bioactive compounds from watermelon juice and investigate their antioxidant capacities. The content of lycopene, flavonoids, and total phenolic content (TPC) in the concentrates increased with the increase of the volume reduction factor (VRF) and were also higher than those detected in the watermelon juice (unfiltered). VRF of 3 showed the best performance of concentration of watermelon juice with the highest values for lycopene, flavonoids, and TPC. Lycopene showed the highest rejection coefficient, followed by flavonoids and TPC. Lipophilic and hydrophilic antioxidant activities (LAA and HAA, respectively) were determined through two assays, namely, the scavenging ability of antioxidants towards the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) assay and the ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. The HAA values in both assays were higher than the LAA values. There was an increase of the antioxidant activity of concentrates with the increase of the VRF. A highly significant correlation was noted between the content of flavonoids, phenolic compounds, ascorbic acid, and lycopene and their antioxidant potential in both HAA and LAA fractions.

Keywords: Watermelon juice; nanofiltration; lycopene; flavonoids; phenolic compounds; antioxidant activity

1 Introdução

A melancia (*Citrullus lanatus*) é uma fruta exótica nativa da África tropical considerada de alto valor nutricional, que contém substâncias antioxidantes que apresentam benefícios à saúde. O suco de melancia tem se tornando cada vez mais popular devido ao seu sabor refrescante, cor atraente e potencial antioxidante (HUOR et al., 1980; EDWARDS et al., 2003). O mesmo contém quantidades significativas de vitamina C e de compostos fenólicos (GIL et al., 2006) e é considerado uma rica fonte de carotenóides, como o licopeno, o composto responsável pela cor vermelha de sua polpa (AGUILÓ-AGUAYO et al., 2010).

O teor de licopeno na melancia é mais elevado do que o de outros frutos e vegetais (PERKINS-VEAZIE; COLLINS, 2004). Nos últimos anos, o licopeno tem despertado grande interesse devido seu potencial antioxidante. O licopeno é considerado um dos mais potentes antioxidantes dentre os carotenóides, atuando como sequestrante do oxigênio singlete. Pesquisas relatam que a capacidade sequestrante do licopeno é duas vezes maior que a do β -caroteno e dez vezes maior do que a do α -tocoferol (GOULA; ADAMOPOULOS, 2005; ZHANG et al., 2007).

Na indústria de alimentos, é extremamente importante a aplicação de processos destinados à concentração de compostos bioativos presentes em alimentos, e que os mesmos visem preservar as características físicas, químicas e as propriedades biológicas desses compostos. Os métodos tradicionais utilizados para esse fim incluem processos que geralmente requerem alta temperatura e alto consumo de energia (AIDER; HALLEUX, 2009). Porém, a melancia contém substâncias termossensíveis, cujas propriedades sensoriais e nutricionais podem ser destruídas pelo calor. A concentração térmica pode destruir antioxidantes naturais, além de ser a causa principal da degradação do licopeno e de outros compostos termolábeis (SHI; LE MAGUER, 2000).

Diante desse contexto, como uma alternativa aos métodos tradicionais utilizados para a concentração de compostos bioativos, os processos de concentração por membranas tornam-se ferramentas potencialmente adequadas no processamento de sucos de frutas tropicais, devido às suas vantagens em termos de elevada taxa de recuperação e / ou elevada eficiência de remoção, condições brandas de operação, ausência de transições de fase e baixo consumo de energia (MATTA et al., 2004). Em particular, a nanofiltração (NF) tem se mostrado um processo extremamente eficiente no fracionamento e na

concentração de solutos a partir de soluções complexas. A mesma dispõe de fluxos mais elevados do que a osmose reversa e uma melhor retenção do que a ultrafiltração para moléculas de massas molares menores, tais como açúcares, matérias orgânicas naturais e íons (CONIDI et al., 2012).

Nos últimos anos, o potencial de concentração de sucos de frutas por processos de NF foi investigado e aplicado para diferentes sucos de frutas (maçã, pêra, groselha, bergamota), e diversas pesquisas relatam benefícios em termos de qualidade do produto obtido (sabor, cor, compostos bioativos) (WARCZOK et al., 2004; BÁNVÖLGYI et al., 2006; CONIDI et al., 2011). No entanto, não há referências científicas que relatem sobre o tratamento de suco de melancia por processos de NF. Considerando os efeitos benéficos à saúde dos compostos bioativos do suco de melancia, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do processo de NF na separação e concentração de compostos bioativos e investigar as suas capacidades antioxidantes.

2 Material e Métodos

2.1 Material

2.1.1 Matéria prima e reagentes

As melancias (*Citrullus lanatus*) foram adquiridas em um supermercado local, em Florianópolis, Santa Catarina. Os reagentes *Folin-Ciocalteu*; o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila; (DPPH[•]); carbonato de sódio; 2,4,6-tripiridil-*s*-triazina (TPTZ); 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico (Trolox); assim como o ácido gálico, ácido ascórbico, rutina, e o 2,6-diclorofenol indofenol (DCIF) foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Todos os demais reagentes utilizados foram de grau analítico (p.a.).

2.2 Preparo do suco de melancia

Os frutos frescos e maduros (*Citrullus lanatus* variedade Crimsom Sweet) pesando em média cerca de 9,0 kg, foram lavados inicialmente com água corrente e higienizados com hipoclorito de sódio (cloro ativo 100 mL/L) por 20 minutos. As melancias foram cortadas longitudinalmente e, em seguida, em pequenos pedaços (cerca de 1 cm³), sendo a polpa separada da casca manualmente. A polpa, com as sementes, foram liquidificadas durante 10 segundos usando um liquidificador comercial (Wallita, Philipps, MG, Brasil). O suco da polpa foi pasteurizado a 85 °C durante 60 segundos e posteriormente filtrado utilizando-se um dessorador, para remoção da polpa. O suco dessorado foi filtrado três vezes a vácuo com filtro de papel de 12,5 cm de diâmetro e porosidade de 25 µm, com auxílio de uma bomba a vácuo (Prismatec, 131, Itu, Brasil). O suco de melancia obtido foi acondicionado em recipiente plástico e armazenado sob-refrigeração (5 ± 1 °C) até a realização do processo.

2.3 Nanofiltração (NF)

Sete litros de suco de melancia foi utilizado como alimentação no processo de nanofiltração (NF). A NF do suco de melancia foi realizada em um sistema de filtração tangencial utilizando-se uma unidade piloto. Foi utilizado o módulo espiral de membrana com as seguintes características: membrana espiral (Osmonics membranes, HL2521TF, Minnetonka, USA), com *cutt-off* de 150-300 Daltons

(g/mol); área útil filtrante de 0,6 m², 98 % de rejeição de MgSO₄, de acordo com o fabricante. Os parâmetros de operação controlados durante o processo de NF foram temperatura de 25 ± 2 °C, adequada para preservar as propriedades do suco de melancia, e pressão transmembrana de 6 bar, considerando a limitação de pressão do piloto de nanofiltração utilizado.

O experimento de concentração foi realizado com reciclagem simultânea do concentrado e remoção do permeado. O fator de redução volumétrico (FRV) foi calculado pela razão entre o volume alimentado inicial (L) e o volume do concentrado remanescente (L). Amostras do concentrado e permeado foram coletadas em diversos tempos de processo, bem como em diferentes FRV (2 e 3).

Durante a nanofiltração, o fluxo de permeado (J) foi medido em intervalos de 10 minutos e calculado de acordo com a Equação 1:

$$J = \frac{V_p}{t \cdot A_p} \quad \text{Equação 1}$$

onde V_p (L) é o volume do permeado coletado durante o intervalo de tempo t (h) e A_p (m²) é a área de superfície de permeação da membrana.

O desempenho do processo de filtração foi avaliado de acordo com o teor de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais presentes no permeado e no concentrado. A eficiência do processo também foi avaliada através do seu coeficiente de retenção, que foi calculado de acordo com a Equação 2:

$$R(\%) = \left(1 - \frac{C_p}{C_c} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 2}$$

onde C_p (mg/100mL) é a concentração de licopeno; ou (mg RE/100mL) de flavonóides totais; ou (mg EAG/100mL) de compostos fenólicos totais no permeado, e C_c (mg/100mL) é a concentração de licopeno; ou (mg RE/100mL) de flavonóides totais; ou (mg EAG/100mL) de compostos fenólicos totais no concentrado.

Antes e após a nanofiltração a membrana foi higienizada com solução alcalina, de acordo com as instruções sugeridas pelo fabricante.

2.4 Composição do suco de melancia, concentrados e permeados

Os valores de pH foram medidos a 25 °C, utilizando-se um potenciômetro Alfakit AT-300 (ALFAKIT, Florianópolis, SC, Brasil). A

acidez titulável (mg/100g de ácido L-málico), teor de ácido ascórbico (mg/100mL de ácido ascórbico), e o teor de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), o qual foi determinado a 25 $^{\circ}$ C utilizando um refratômetro I Tropen Carlzeiss Jena, foram determinados de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (2005).

2.4.1 Procedimento de extração

O suco de melancia, concentrados e permeados foram submetidos a processos de extração com três solventes extratores diferentes, de acordo com Oms-Oliu et al. (2009), com modificações. Alíquotas de 2 μ L de cada amostra foram extraídas com água, metanol e acetona 50 % sob constante agitação a 20 ± 2 $^{\circ}$ C durante 2 horas, seguido de 10 minutos de sonicação (Ultrasonic Clean 1650A, Maxi Clean). As amostras foram centrifugadas a 6000 g a 4 $^{\circ}$ C por 15 minutos (Centrifuge S415R, Eppendorf AG, Hamburg, Germany). Os sobrenadantes de cada extrato foram utilizados para posteriores determinações.

2.4.2 Determinação de licopeno

O teor de licopeno foi determinado espectrofotometricamente de acordo com a metodologia descrita por Davis, Fish e Perkins-Veazie (2003) e Oms-Oliu et al. (2009), com pequenas modificações. A extração do licopeno foi realizada em ambiente escuro a fim de evitar a oxidação do mesmo. Foram pesados em balança analítica cerca de 0,6 g (três replicatas) de suco de melancia, concentrados e permeados aos quais foram adicionados 5 mL de etanol 95 %, seguido da adição de 5 mL de BHT 0,05 % (m/v) em acetona, e 10 mL de hexano. A extração foi realizada em sonificador (Ultrasonic Clean 1650A, Maxi Clean) a 25 $^{\circ}$ C \pm 2 $^{\circ}$ C por 15 minutos. Após isso, foram adicionados 3 mL de água destilada e as amostras foram sonicadas por mais 5 minutos. Os tubos foram deixados a temperatura ambiente (25 $^{\circ}$ C \pm 2 $^{\circ}$ C) por 5 minutos para permitir a separação de fases. A absorbância da fase superior, a fase hexânica, foi medida em espectrofotômetro (Hitachi, U-1800, Tokyo, Japan) a 503 nm em cubeta de quartzo de 1 cm de comprimento ótico, utilizando o hexano como branco. O comprimento de onda de 503 nm foi selecionado a fim de se minimizar a interferência dos outros carotenóides da melancia. O teor de licopeno da amostra foi estimado de acordo com a Equação 3.

$$Licopeno = \frac{\Delta 503 \cdot PM \cdot FD \cdot 1000}{\epsilon \cdot L} \quad \text{Equação 3}$$

onde PM é a massa molar do licopeno (536,9 g/mol), FD é o fator de diluição, ϵ é o coeficiente de extinção molar para licopeno ($17,2 \times 10^4$ L/mol cm) e L é a espessura da cubeta em cm.

2.4.3 Determinação de flavonóides totais

O teor de flavonóides totais do suco de melancia, concentrados e permeados foi determinado em triplicata a partir de alíquotas de cada amostra (0,6 g), como descrito por Zhishen et al. (1999), com modificações. Resumidamente, alíquotas de 500 μ L do extrato metanólico de cada amostra foram adicionadas a 150 μ L de NaNO₂ 5%. Após 5 minutos, foram adicionados 150 μ L de AlCl₃ 10% e, após 6 minutos, foi adicionado 1 mL de NaOH 1 M. A absorbância foi lida a 425 nm, utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (Hitachi, U-1800, Tokyo, Japan). A curva de calibração foi construída utilizando a rotina ($y = 0,1388x - 0,1251$; $r^2 = 0,99$) e o teor de flavonóides totais foi expresso em mg de equivalentes de rutina por 100 mL de amostra (mgRE/100mL).

2.4.4 Determinação de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais do suco de melancia, concentrados e permeados foi determinado espectrofotometricamente de acordo com o método de *Folin-Ciocalteu* descrito por Singleton, Joseph e Rossi (1965), com algumas modificações. Resumidamente, alíquotas de 1 mL do extrato aquoso de cada amostra foram adicionadas a 4,5 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente de *Folin-Ciocalteu*, a mistura foi homogeneizada e deixada em repouso durante 5 minutos e, em seguida, foram adicionados 4 mL de solução de Na₂CO₃ (7,5 g/100 mL). Após exatamente 60 minutos, a absorbância da solução foi avaliada a 765 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Hitachi, U-1800, Tokyo, Japan). A curva de calibração foi construída utilizando o ácido gálico ($y = 10,371x - 0,0162$; $r^2 = 0,99$) e o teor de compostos fenólicos totais foi expresso em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 mL de amostra (EAG/100mL).

2.5 Determinação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante de extratos hidrofílicos (HAA) e lipofílicos (LAA) foi realizada através de dois métodos diferentes, isto é, a capacidade sequestrante do radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH[•]) por antioxidantes, e o poder antioxidante de redução de ferro (FRAP). Os antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos foram extraídos com metanol e acetona 50 %, respectivamente, como descrito no item 2.4.2.

2.5.1 DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

Este método baseia-se na medida da capacidade das amostras em sequestrar o radical estável DPPH[•], de acordo com o método desenvolvido por Brand-Williams et al. (1995) e modificado por Kim et al. (2002). Alíquotas de 0,1 mL do sobrenadante de cada extrato foram adicionadas a 2,9 mL de solução etanólica de DPPH[•] (0,039 g / L). A mistura foi agitada vigorosamente e mantida no escuro durante 30 minutos. A absorbância da solução resultante foi avaliada a 515 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Hitachi, U-1800, Tokyo, Japan), utilizando o etanol 80 % como branco. A curva de calibração foi construída utilizando soluções contendo concentrações conhecidas de Trolox (10 – 200 mM; $r^2 = 0,99$). Os resultados foram expressos em micromol de Trolox por 100 mL de amostra ($\mu\text{Mtrolox}/100 \text{ mL}$).

2.5.2 Potencial antioxidante redutor férrico (FRAP)

O potencial antioxidante redutor férrico foi determinado a partir do método descrito por Benzie e Strain (1996). O método é baseado na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem em meio ácido (pH 3,6) o complexo Fe^{3+} /tripiridiltiazina (TPTZ) para formar Fe^{2+} , de intensa cor azul. Resumidamente, 100 μL de sobrenadante de cada extrato foram adicionados a 100 μL de FeCl_3 (3 mM em 5 mM de ácido cítrico) e incubados a 37 °C durante 30 minutos. Após incubação, foi adicionada uma solução contendo 1,8 mL de TPTZ 1 mM em HCl 50 mM, mais 300 mM de tampão acetato (pH 3,6) e, após exatamente 10 minutos, a absorbância da solução resultante foi medida espectrofotometricamente a 593 nm (Hitachi, U-1800, Tokyo, Japan). A curva de calibração foi construída utilizando soluções contendo concentrações conhecidas de Trolox (10 – 400 mM; $r^2 = 0,99$).

Os resultados também foram expressos em micromol de Trolox por 100 mL de amostra ($\mu\text{MTrolox}/100\text{ mL}$).

2.6 Análise estatística

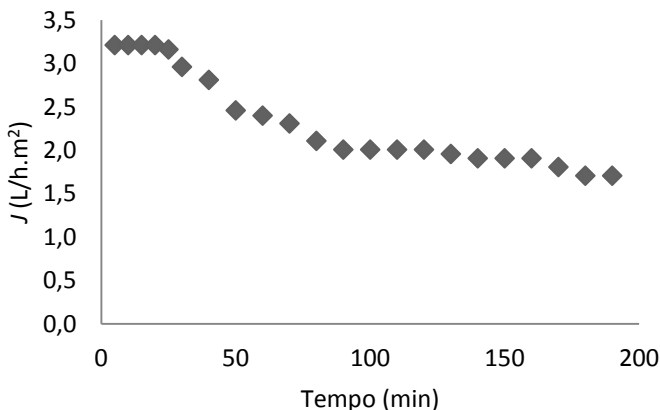
Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão de três repetições, seguidas por análise de variância (ANOVA), sendo as médias dos resultados comparadas entre si pelo teste Tukey ao nível de 5 % de significância, para verificar diferenças significativas. O teste de correlação de Pearson foi utilizado para a determinação da relação entre as atividades antioxidantes dos dois ensaios independentes (DPPH e FRAP) e o teor de flavonóides totais; o teor fenólico total; o teor de ácido ascórbico; e o teor de licopeno, seguido pelo teste Student para avaliar a significância ($p < 0,05$, $p < 0,001$). A análise dos dados foi realizada utilizando o software Statistica 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA).

3 Resultados e Discussão

3.1 Nanofiltração

Durante a nanofiltração (NF) do suco de melancia obteve um fluxo de permeado (J) médio de $2,3 \text{ L/h.m}^2$, estando de acordo com Warczok et al. (2004), que submeteram sucos de maçã e pêra à NF e obtiveram valores de J entre $1,4 - 5,6 \text{ L/h.m}^2$ e $1,8 - 5,9 \text{ L/h.m}^2$, respectivamente. Foi observada uma redução de (J) ao longo do tempo de filtração (Figura 2.1), devido à camada de polarização (concentração de compostos na superfície da membrana) e ao *fouling* de membrana. Rai et al. (2010) atribuem este declínio ao fato do suco de melancia ser uma dispersão complexa, que inclui partículas suspensas que podem se comportar diferentemente de acordo com a pressão aplicada. Além disso, Yu et al. (1986) e Barros et al. (2003), relataram que no caso de sucos de frutas, os incrustantes de membrana são provavelmente componentes de paredes celulares, polissacarídeos, tais como a pectina, celulose e hemicelulose. Um comportamento similar foi relatado por Conidi et al. (2012), na separação e concentração por NF de compostos fenólicos presentes em licor extraído a partir de cascas de laranjas prensadas.

Figura 2.1 - Fluxo do permeado (J) durante o tempo (min) de nanofiltração do suco de melancia a $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e pressão de 6 bar



O suco de melancia, assim como as amostras de concentrado e permeado que foram coletadas em diferentes FRVs, foram analisados quanto ao seu teor de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais, com o intuito de avaliar o desempenho da NF na concentração dos principais compostos bioativos do suco de melancia.

3.2 Composição do suco de melancia, concentrados e permeados

A Tabela 2.1 ilustra a composição do suco de melancia, concentrados e permeados obtidos no processo de nanofiltração. De um modo geral, os resultados de todos os componentes avaliados presentes nos concentrados e permeados coletados nos diferentes valores de FRV, foram significativamente diferentes do resultado encontrado para o suco de melancia (não filtrado). O teor de sólidos solúveis totais e de ácido ascórbico nos concentrados aumentou ($p < 0,05$) à medida que o valor de FRV foi aumentado. Entretanto, o valor de pH nos concentrados diminuiu ($p < 0,05$) conforme o aumento do FRV. Esse comportamento apresenta concordância com a evolução da acidez ao longo do aumento do FRV, estando de acordo com o relatado por Gurak et al. (2010) e Aguiar et al. (2012).

Tabela 2.1 - Composição do suco de melancia, concentrados e permeados obtidos por nanofiltração*

	Sólidos solúveis totais (° Brix)	pH	Acidez titulável ^a	Ácido Ascórbico (mg/100 mL)	Licopeno (mg/100mL)	Flavonóides (mg RE ^b /100mL)	Fenólicos Totais (mg EAG ^c /100mL)
Suco melancia	8,5 ± 0,0 ^{aC}	5,64 ± 0,0 ^{cC}	0,05 ± 0,00 ^{aA}	4,56 ± 0,0 ^{aC}	5,02 ± 0,53 ^{aB}	18,08 ± 1,2 ^{aB}	15,93 ± 0,0 ^{aB}
Concentrado							
FRV 2	11,0 ± 0,0 ^b	5,23 ± 0,0 ^b	0,30 ± 0,0 ^b	4,88 ± 0,0 ^b	5,31 ± 1,11 ^b	24,58 ± 0,8 ^b	21,04 ± 0,0 ^b
FRV 3	13,0 ± 0,0 ^c	5,06 ± 0,0 ^a	0,32 ± 0,0 ^b	5,33 ± 0,0 ^c	6,76 ± 1,00 ^c	41,94 ± 0,5 ^c	25,52 ± 0,0 ^c
Permeado							
FRV 2	6,0 ± 0,0 ^A	5,13 ± 0,1 ^A	0,35 ± 0,1 ^B	1,96 ± 0,0 ^A	0,09 ± 0,08 ^A	1,22 ± 0,10 ^A	7,94 ± 0,10 ^A
FRV 3	7,0 ± 0,0 ^B	5,18 ± 0,0 ^B	0,36 ± 0,1 ^B	2,28 ± 0,0 ^B	0,11 ± 0,00 ^A	1,87 ± 0,0 ^A	8,89 ± 0,01 ^A

*Valores médios ± desvio padrão das análises realizadas em triplicata.

^{a-c} Letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o suco de melancia e os concentrados coletados em dois diferentes valores de FRV.

^{A-E} Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o suco de melancia e os permeados coletados em dois diferentes valores de FRV.

^a Expresso como g/100 mL de ácido L-málico.

^b RE = Equivalente de Rutina.

^c EAG= Equivalentes de Ácido Gálico

3.2.1 Teor de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais.

Os teores de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais nos concentrados aumentaram ($p < 0,05$) à medida que o valor de FRV foi aumentando e foram superiores ao teor obtido no suco de melancia (não filtrado) (Tabela 2.1). O melhor desempenho na concentração do suco de melancia por NF foi obtido no FRV 3, resultando no maior conteúdo de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais.

O teor de licopeno no suco de melancia foi similar e ligeiramente inferior aos valores obtidos por Oms-Oliu et al. (2009) e Rawson et al. (2011), respectivamente, em suco de melancia (*Citrullus lanatus*). Vale salientar que o conteúdo de licopeno da melancia pode variar entre diferentes cultivares, como também de acordo com as diferentes fontes de produção, ambientes de cultivo e época do ano. A maior percentagem de retenção (R) alcançada foi de 98,37 %, indicando a elevada eficiência do processo na concentração do licopeno do suco de melancia. Esse resultado foi melhor do que o verificado por Rai et. al (2010), na microfiltração do suco de melancia (*Citrullus lanatus*), que obteve um R de 66,68 %. Um dos mecanismos responsáveis pela alta retenção de compostos pela membrana de nanofiltração é atribuído principalmente ao tamanho molecular desses compostos. A massa molar do licopeno é de 536,85 Da e, portanto, é retido na fração concentrada da membrana. Além disso, de acordo com Shi e Le Maguer (2000) e Omoni e Aluki (2005), devido à natureza hidrofóbica do licopeno, o mesmo geralmente se emulsiona com a membrana, além de se ligar a outras moléculas maiores, como detritos celulares, proteínas e pectinas, favorecendo desta forma, a rejeição pela membrana.

O teor de flavonóides totais no suco de melancia foi similar ao encontrado por Tlili et al. (2011a), em frutos de melancia variedade Crimson Sweet. O valor de R obtido foi de 95,54 %, indicando um bom desempenho de concentração por membrana. Mello et al. (2010) também alcançaram valores elevados de R , de cerca de 99 e 90 %, respectivamente, na concentração de flavonóides em extratos aquosos e etanólicos de própolis, empregando a NF. Similarmente, Conidi et al. (2012) na concentração de flavonóides em licor extraído a partir de cascas de laranjas prensadas, obtiveram um R de cerca de 90 %. A elevada retenção observada no presente trabalho pode indicar a presença de flavonóides com massa molar maior ou próximas ao *cut-off* da

membrana (150 – 300 Da), que são consequentemente retidos no concentrado.

O teor de compostos fenólicos totais no suco de melancia foi similar ao encontrado por Rawson et al. (2011). Entretanto, foi verificada uma menor percentagem de retenção dos compostos fenólicos totais em relação ao licopeno e flavonóides. O valor de *R* obtido foi de 65,16 %, indicando que aproximadamente 35 % desses compostos passaram através da camada ativa da membrana. Esse fato pode ser atribuído à baixa capacidade da membrana em reter este tipo de composto, em decorrência de sua baixa massa molar. Um comportamento similar foi relatado por Conidi et al. (2011), na concentração de fenólicos totais de suco de bergamota por NF, obtendo *R* de 44,0 %, utilizando membrana de 750 Da.

3.3 Atividade antioxidante hidrofílica e lipofílica (DPPH[•] e FRAP)

Antioxidantes podem inativar espécies reativas através de dois mecanismos principais, isto é, mecanismos baseados em reações de transferência de elétrons (TE) e aqueles baseados em reações de transferência de átomo de hidrogênio (TAH). Esses dois mecanismos podem ser afetados pela estrutura e propriedades dos antioxidantes, pelo coeficiente de solubilidade e partição, assim como pelo solvente extrator (CELIK et al., 2010). O tipo de solvente utilizado e a polaridade do mesmo pode afetar de forma significativa o desempenho de reações antioxidantes baseadas em mecanismos de TE e TAH (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006). O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antioxidante dos compostos bioativos presentes em dois extratos diferentes, de acordo com a sua polaridade.

Conforme os resultados apresentados na Tabela 2.2, o suco de melancia (não filtrado), concentrados e permeados apresentaram diferentes poderes sequestrantes de radicais DPPH[•], que variaram de acordo com o solvente extrator. O potencial sequestrante do extrato contendo antioxidantes hidrofílicos (HAA) aumentou ($p < 0,05$) conforme o aumento do FRV em amostras concentradas, o que é concordante com a maior concentração de compostos bioativos presentes nas mesmas. O mesmo comportamento foi observado por Prudêncio et al. (2012) na avaliação da atividade antioxidante do extrato aquoso da casca do resíduo da erva-mate, empregando o método DPPH[•]. Como esperado, os permeados apresentaram atividade antioxidante

desprezível, confirmando os elevados valores de retenção de compostos bioativos polares.

Um comportamento similar ao observado na fração HAA foi verificado no extrato contendo antioxidantes lipofílicos (LAA) (Tabela 2). Contudo, os valores referentes ao LAA foram inferiores ($p < 0,05$) aos valores encontrados no HAA. Lenucci et al. (2006) e Ilhahy et al. (2011) relataram o mesmo comportamento na determinação da capacidade antioxidante de tomates, utilizando os métodos FRAP e TEAC, respectivamente. De acordo com Jiménez et al. (2002) e Lennuci et al. (2006), esse comportamento pode ser atribuído à influência da presença de diferentes antioxidantes hidrofílicos, como também pode depender do efeito sinérgico entre todos os antioxidantes hidrofílicos e as suas interações com outros constituintes da fração. Contudo, os permeados apresentaram valores superiores ($p < 0,05$) no LAA quando comparados ao HAA, o que pode indicar a presença de componentes predominantemente apolares, que apresentam maior capacidade sequestrante nessas condições, como o licopeno e outros compostos lipofílicos.

A atividade antioxidante das amostras analisadas também foi avaliada em relação à capacidade de redução de ferro, através do método FRAP. Conforme os resultados apresentados na Tabela 2.2, o comportamento geral das amostras seguiu uma tendência similar à observada no método DPPH. Da mesma forma, os valores referentes ao LAA foram inferiores ($p < 0,05$) aos da fração HAA. Esse resultado diferiu do comportamento observado por Tlili et al. (2011a), na investigação da atividade antioxidante de diferentes cultivares de melancia, provavelmente devido à utilização de solventes extratores lipofílicos distintos (hexano). De acordo com Van Den Berg et al. (1999), diferentes compostos apresentam diferentes cinéticas de reação em diferentes níveis de hidrofobicidade.

Por fim, assim como os teores dos compostos bioativos, a atividade antioxidante nos concentrados aumentou conforme o incremento do FRV independentemente do método de análise utilizado e em ambas as frações. Portanto, os compostos bioativos presentes em suco de melancia podem ser concentrados por nanofiltração, a fim de aumentar a atividade antioxidante.

Tabela 2.2 - Atividade antioxidante hidrofílica e lipofílica do suco de melancia, concentrados e permeados obtidos pelo processo de nanofiltração de suco de melancia.

	DPPH (μM Trolox/100 mL)		FRAP (μM Trolox/100 mL)	
	HAA	LAA	HAA	LAA
Suco de melancia	$181,1 \pm 7,6^{\text{aB**}}$	$137,6 \pm 3,0^{\text{aC*}}$	$142,5 \pm 4,1^{\text{aB**}}$	$22,5 \pm 3,7^{\text{aC*}}$
Concentrado				
FRV 2	$270,0 \pm 7,4^{\text{b**}}$	$156,8 \pm 4,3^{\text{b*}}$	$161,5 \pm 1,1^{\text{b**}}$	$38,6 \pm 4,6^{\text{b*}}$
FRV 3	$373,3 \pm 4,1^{\text{c**}}$	$276,8 \pm 6,1^{\text{c*}}$	$179,4 \pm 1,2^{\text{c**}}$	$52,84 \pm 9,7^{\text{c*}}$
Permeado				
FRV 2	n.d	$49,7 \pm 0,0^{\text{A*}}$	n.d	$4,8 \pm 0,0^{\text{A*}}$
FRV 3	$3,3 \pm 6,6^{\text{A**}}$	$62,6 \pm 0,0^{\text{B*}}$	$3,54 \pm 0,0^{\text{A**}}$	$8,6 \pm 1,5^{\text{B*}}$

Valores médios \pm desvio padrão das análises realizadas em triplicata.

^{a-c} Letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o suco de melancia e os concentrados coletados em dois diferentes valores de FRV.

^{A-E} Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o suco de melancia e os permeados coletados em dois diferentes valores de FRV.

n.d = não detectado

*-** Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os valores HAA e LAA da mesma linha referentes ao DPPH.

*-'' Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os valores HAA e LAA da mesma linha referentes ao FRAP.

A correlação entre compostos bioativos e a atividade antioxidante de frutas e vegetais tem sido estudada por diversos autores, no entanto, nenhuma informação sobre este tipo de correlação foi relatada para o suco de melancia. Os coeficientes de correlação de

Pearson entre a atividade antioxidante (DPPH e FRAP) e o teor de flavonóides totais, fenóis totais, ácido ascórbico e licopeno são mostrados na Tabela 2.3. Verificou-se uma correlação altamente significativa entre os métodos DPPH e FRAP e os valores de HAA ($r = 0,96$, $p < 0,05$) e uma correlação relativamente mais elevada com os valores de LAA ($r = 0,99$, $p < 0,001$), o que indica que os diferentes extratos analisados apresentaram atividade antioxidante comparável em ambos os métodos. Correlações semelhantes foram relatados por Thaipong et al. (2006) e Almeida et al. (2011), para goiaba e frutas exóticas do nordeste do Brasil, respectivamente.

Tabela 2.3 - Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as atividades antioxidantes dos ensaios DPPH e FRAP e o teor de fenólicos totais, flavonóides totais, ácido ascórbico e licopeno.

	DPPH (μM Trolox/100 mL)	FRAP (μM Trolox/100 mL)
	HAA	HAA
	R	R
Fenólicos totais	0,99**	0,95*
Flavonóides	0,98**	0,92*
Ácido ascórbico	0,97*	0,99**
FRAP	0,96*	
	LAA	
	R	R
Licopeno	0,89*	0,92*
FRAP	0,99**	

**Nível de significância de $p < 0,001$.

*Nível de significância de $p < 0,05$.

O conteúdo de flavonóides totais e compostos fenólicos totais apresentou uma forte correlação com os valores de HAA obtidos através

do FRAP ($r = 0,95$ e $0,92$, respectivamente, $p < 0,05$), e uma correlação relativamente mais forte com os valores obtidos através do DPPH ($r = 0,98$ e $0,99$, respectivamente, $p < 0,001$). Reddy et al. (2010) e Almeida et al. (2011) também verificaram uma forte relação entre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante de frutas e vegetais. Entretanto, Tlili et al. (2011a), na análise de diferentes cultivares de melancia, observaram uma moderada correlação linear entre os valores de TEAC e o conteúdo fenólico total ($r = 0,64$, $p < 0,01$), e uma fraca, porém significativa correlação, entre os valores do FRAP e o conteúdo fenólico total ($r = 0,40$, $p < 0,01$). Gardner et al. (2000), na análise de sucos de frutas, relataram uma elevada correlação entre o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante determinada pelo método FRAP, estando de acordo com os resultados do presente trabalho. A capacidade de sucos de frutas de reduzir o Fe (III) reflete a capacidade de muitos compostos fenólicos de doar átomos de hidrogênio e elétrons a partir de grupamentos hidroxila presentes no anel aromático de sua estrutura (GARDNER et al., 2000).

Correlações entre o teor de ácido ascórbico e a atividade antioxidante foram relatadas principalmente em frutas com alto teor de ácido ascórbico (GARDNER et al., 2000; THAISUNG, 2006), porém, essa correlação foi obtida no presente trabalho. Como ilustrado na Tabela 2.3, o teor de ácido ascórbico foi positivamente correlacionado com os valores de HAA ($p < 0,05$) em ambos os ensaios. No entanto, os valores de HAA obtidos através do FRAP apresentaram uma correlação relativamente mais elevada ($r = 0,99$, $p < 0,001$). Essa correlação foi superior à encontrada por Tlili et al. (2011b), na determinação da capacidade antioxidante de frutos de melancia, que relataram uma correlação moderada entre os teores de ácido dehidroascórbico e ácido ascórbico e os valores do HAA obtidos através do FRAP ($r = 0,32$; $0,43$, respectivamente, $p < 0,001$). Por sua vez, Thaipong et al. (2006) na análise de extrato metanólico de goiabas, também relataram uma maior correlação entre o teor de ácido ascórbico e os valores de FRAP quando comparada a outras metodologias antioxidantes ($r = 0,92$, $p < 0,001$), estando de acordo com os resultados do presente trabalho. Estes resultados indicam que o ácido ascórbico é um potente agente redutor, além de ser um dos principais contribuintes hidrofílicos capazes de reduzir os agentes oxidantes.

De acordo com Tlili et al. (2011a) e Tlili et al. (2011b), a atividade antioxidante lipofílica tem sido atribuída principalmente à

presença de carotenóides, particularmente o licopeno, em frutos de melancia. Conforme apresentado na Tabela 2.3, uma forte correlação positiva foi obtida entre o teor de licopeno e a atividade antioxidante em ambos os métodos, DPPH ($r = 0,89$, $p < 0,05$) e FRAP ($r = 0,92$, $p < 0,05$). Similarmente, Tlili et al. (2011b), relataram uma correlação significativa entre os valores de TEAC e o teor de licopeno ($r = 0,65$, $p < 0,001$) em frutos de melancia. Além disso, Ilahy et al. (2011), também relataram uma alta correlação entre os valores de FRAP do LAA e o teor de licopeno ($r = 0,82$, $p < 0,001$) de diferentes cultivares de tomate. Desta forma, os resultados do presente trabalho indicam que o licopeno parece ser o principal composto lipofílico contribuindo na atividade antioxidante lipofílica de suco de melancia. No entanto, deve ser sempre considerado que a atividade antioxidante também pode depender dos possíveis efeitos sinérgicos e/ou antagonistas entre outros compostos bioativos lipofílicos, podendo também contribuir na atividade antioxidante da fração LAA (LENUCCI et al., 2006; PELLEGRINI et al., 2007).

4 Conclusão

A nanofiltração mostrou-se uma alternativa eficaz para a concentração dos principais compostos bioativos de suco de melancia. O melhor desempenho na concentração do suco de melancia foi obtido no FRV 3, alcançando os maiores teores de licopeno, flavonóides totais e compostos fenólicos totais. O licopeno apresentou o maior coeficiente de retenção de 98,37 %, seguido dos flavonóides e compostos fenólicos com 95,54 % e 65,16 %, respectivamente, refletindo a eficiência do processo de concentração. Além disso, os extratos hidrofílicos e lipofílicos de suco de melancia apresentaram variações significativas nas suas capacidades de interagir com o DPPH e FRAP. A atividade antioxidante dos concentrados aumentou à medida que o FRV foi aumentando. Por fim, foi verificada uma correlação altamente significativa entre o conteúdo de flavonóides totais, fenóis totais, ácido ascórbico e licopeno, e os seus potenciais antioxidantes nas frações HAA e LAA.

Referências

- AIDER, M.; HALLEUX, D. Cryoconcentration technology in the bio-food industry: Principles and applications. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 679-685, 2009a.
- AGUIAR, I.B.; MIRANDA, N.G.M.; GOMES, F.S.; SANTOS, M.C.S.; FREITAS., D.G.C.; TONON, R.V.; CABRAL, L.M.C. Physicochemical and sensory properties of apple juice concentrated by reverse osmosis and osmotic evaporation. **Innovative Food and Science Emerging Technology**, <http://doi:10.1016/j.ifset.2012.05.003>, 2012.
- AGUILÓ-AGUAYO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. **Innovative Food and Science Emerging Technology**, v. 11, p. 299–305, 2010.
- ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M. P.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A. M.; LEMOS, T.L.G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2155–2159, 2011.
- AOAC, 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
- BÁNVÖLGYI, S.; HORVÁTH, S.; BÉKÁSSY-MOLNÁR, E.; VATAI, G. Concentration of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) juice with nanofiltration. **Desalination**, v. 200, p. 535–536, 2006.
- BARROS, S. T. D. de; ANDRADE, C. M. G.; MENDES, E. S.; PERES, L. Study of fouling mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltration. **Journal of Membrane Science**, v. 215, p. 213-224, 2003.
- BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, p.70-76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CELIK, S.E.; OZYUREK, M.; GUCLU, K.; APAK, S. Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods. **Talanta**, v. 81, p. 1300–1309, 2010.

CONIDI, C.; CASSANO, A.; DRIOLI, E. A membrane-based study for the recovery of polyphenols from bergamot juice. **Journal of Membrane Science**, v. 375, p. 182–190, 2011.

CONIDI, C.; CASSANO, A.; DRIOLI, E. Recovery of phenolic compounds from orange press liquor by nanofiltration. **Food and Bioproducts Processing**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2012.07.005>, 2012.

DAVIS, A.R.; FISH, W.W.; PERKINS-VEAZIE, P. A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p. 425-430, 2003.

EDWARDS, A. J.; VINYARD, B. T.; WILEY, E. R.; BROWN, E. D.; COLLINS, J.K.; PERKINS-VEAZIE, P.; BAKER, R.A.; CLEVIDENCE, B.A. Consumption of watermelon juice increases plasma concentration of lycopene and β -carotene in humans. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 4, p. 1043–1050, 2003.

GARDNER, P. T.; WHITE, T.A.C.; McPHAIL, D. B.; DUTHIE, G. G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food Chemistry**, v. 68, p. 471–474, 2000.

GIL, M. I.; AGUAYO, E.; KAER, A. A. Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4284–4296, 2006.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. Stability of lycopene during spray drying of tomato pulp. **LWT-Food and Science Technology**, v. 38, p. 479–487, 2005.

GURAK, P. D.; CABRAL, L.M.C.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; VIRGÍNIA M.; MATTA, V. M.; FREITAS, S. P. Quality evaluation of grape juice concentrated by reverse osmosis. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 421–426, 2010.

HUOR, S.S.; AHMED, E.M.; RAO, P.V.; CORNELL, J.A. Formulation and sensory evaluation of a fruit punch containing watermelon juice. **Journal of Food Science**, v. 45, p. 809–813, 1980.

ILAHY, R.; HDIDER, C.; LENUCCI, M. S.; TLILI, I.; DALESSANDRO, G. Antioxidant activity and bioactive compound changes during fruit ripening of high-lycopene tomato cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 588–595, 2011.

JIMÉNEZ, A.; CREISSEN, G.; KULAR, B.; FIRMIN, J.; ROBINDON, S.; VERHOYEN, M.; MULLINEAUX, P. Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. **Planta**, v. 214, p. 751–758, 2002.

KIM, D. O.; LEE, K.W.; LEE, H.J.; LEE, C.Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3713–3717, 2002.

LENUCCI, M.S.; CADINU, D.; TAURINO, M.; PIRO, G.; DALESSANDRO, G. Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2606–2613, 2006.

MATTA, V.M.; MORETTI, R.H.; CABRAL, L.M.C. Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p.477–482, 2004.
MELLO, B.C.B.S.; PETRUS, J. C. C.; HUBINGER, M. D. Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 533–539, 2010.

OMONI, A. O.; ALUKO, R. E. The anti-carcinogenic and antiatherogenic effects of lycopene: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, p. 344–350, 2005.

OMS-OLIU, G.; ODRIOZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effects of high-intensity pulsed electric field processing conditions on lycopene, vitamin C and antioxidant capacity of watermelon juice. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1312–1319, 2009.

PELLEGRINI, N.; COLOMBI, B.; SALVATORE, S.; BRENNA, O.; GALAVERNA, G.; Del RIO, D. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 103–111, 2007.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 791–800, 2006.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K. Flesh quality and lycopene stability in fresh cut watermelon. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31, p. 159–166, 2004.

PRUDÊNCIO, A. P. A.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C.; MURAKAMI, A. N. N.; MARASCHIN, M.; PETRUS, J. C. C.; OGLIARI, P. J.; LEITE, R. S. 2012. Phenolic composition and antioxidant activity of the aqueous extract of bark from residues from mate tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) bark harvesting concentrated by nanofiltration. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 399–405, 2012.

RAI, C.; RAI, P., MAJUMDAR, G. C.; DE, S.; DASGUPTA, S. Mechanism of permeate flux decline during microfiltration of watermelon (*Citrullus lanatus*) juice. **Food and Bioproducts Processing**, v. 3, p. 545–553, 2010.

REDDY, C. V. K.; SREERAMULU, D.; RAGHUNATH, M.
Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 285–288, 2010.

RAWSON, A.; TIWARI, B.K.; PATRAS, A.; BRUNTON, N.; BRENNAN, C.; CULLEN, P.J.; O'DONNELL, C. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. **Food Research International**, v. 44, p. 1168–1173, 2011.

SHI, J.; LE MAGUER, M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. **Food Science and Nutrition**, v.40, n.1, p.1-42, 2000.

SINGLETON, V. L.; ROSSI J. R., J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p.144–158, 1965.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D. H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 669–675, 2006.

TLILI, I.; HDIDER, C.; LENUCCI, M.S.; ILAHY, R.; JEBARI, H.; DALESSANDRO, G. Bioactive compounds and antioxidant activities of different watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld) cultivars as affected by fruit sampling area. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 307-314, 2011a.

TLILI, I.; HDIDER, C.; LENUCCI, M.S.; ILAHY, R.; JEBARI, H.; DALESSANDRO, G. Bioactive compounds and antioxidant activities during fruit ripening of watermelon cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 923-928, 2011b.

VAN DEN BERG, R.; HAENEN, G. R. M. M.; VAN DEN BERG, H.; BAST, A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant

capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. **Food Chemistry**, v. 66, p. 511–517, 1999.

WARCZOK, J.; FERRANDO, M.; LÓPEZ, F.; GÜELL, C. Concentration of apple and pear juices by nanofiltration at low pressures. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 63-70, 2004.

YU, Z.R.; CHIANG, B.H.; HWANG, L.S. Retention of passion fruit juice compounds by ultrafiltration. **Journal of Food Science**, v. 51, p. 841–844, 1986.

ZHANG, J.; DHAKAL, I.; STONE, A.; NING, B.; GREENE, G.; LANG, N.P.; KADLUBAR, F.F. Plasmacarotenoids and prostate cancer: a population-based case-control study in Arkansas. **Nutrition and Cancer**, v. 59, p. 46-53, 2007a.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555–559, 1999.